



# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y  
TECNOLÓGICAS

---

POSGRADO EN BIOCENCIAS

SECUENCIACIÓN Y ESTRUCTURA DEL GENOMA  
MITOCONDRIAL DEL BAGRE DE SINALOA *Ictalurus*  
sp. (SILURIFORMES: ICTALURIDAE), EN EL  
NOROESTE DE MÉXICO

TESIS

Para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOCENCIAS

Presenta:

MELISSA CASTAÑEDA RIVERA

Hermosillo, Sonora, México

10 de Enero del 2014

SH167.C35  
.C38

T- 160199

**SECUENCIACIÓN Y ESTRUCTURA DEL GENOMA MITOCONDRIAL DEL  
BAGRE DE SINALOA *Ictalurus* sp. (SILURIFORMES: ICTALURIDAE),  
EN EL NOROESTE DE MÉXICO**

**TESIS**

**Para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN BIOCIENCIAS**

**Presenta:**

**MELISSA CASTAÑEDA RIVERA**

**Hermosillo, Sonora**

**Enero de 2014**

## APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis titulada “Secuenciación y estructura del Genoma Mitocondrial del Bagre de Sinaloa *Ictalurus* sp. (Siluriformes: Ictaluridae), en el Noroeste de México”, presentada por Melissa Castañeda Rivera, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Biociencias.




---

Dr. Alejandro Varela Romero  
Director




---

Dr. José Manuel Grijalva Chon  
Sinodal Secretario



---

Dr. Luis Enrique Gutiérrez Millán  
Sinodal



---

Dr. Gorgonio Ruiz Campos  
Sinodal

## DEDICATORIA

A mi mamá que es una guerrera de vida por su esfuerzo, voluntad y fuerza para salir adelante pero sobre todo por su apoyo incondicional en todo momento de mi vida.

    Mi hermana por su alegría, por sus palabras de aliento en momentos complicados, gracias enana.

    Mi papá por enseñarme que trabajando duro y con disciplina se logra alcanzar metas en la vida.

    A mi familia por su apoyo incondicional aunque estamos lejos de corazón siempre unidos los quiero mucho.

    En especial a mi futuro esposo Sergio, gracias por estar siempre a mi lado, creer en mí, ayudarme y apoyarme, gracias por ser esa persona especial en mi vida. Te amo.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por su apoyo económico en el financiamiento de mi posgrado y el desarrollo de este proyecto.

A la Universidad de Sonora por darme la oportunidad de realizar mis estudios profesionales, donde no solo aprendí sino tuve las mejores experiencias y conocí a las personas más increíbles que ahora son parte especial en mi vida.

Al Dr. Alejandro Varela Romero, quién no solo me brindó la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo, me mostró una parte de la investigación que desconocía y que hoy en día forma parte de mi esencia misma, por siempre apoyarme y brindarme la confianza de que podía alcanzar mis metas y nunca rendirme, definitivamente quien soy hoy en gran medida se lo debo a usted muchas gracias doc.

A mis sinodales Dr. José Manuel Grijalva Chon, Dr. Luis Enrique Gutiérrez Millán y Dr. Gorgonio Ruiz Campos por sus consejos y apoyo durante la realización de este trabajo y ser parte de mi formación académica.

A Dean A. Hendrickson, James E. Brooks, Dave Neally, Sergio Sánchez Gonzáles y Nick Smith quienes apoyaron en la recolecta de muestras y provisión de tejidos.

A mis amigos y compañeros de la Maestría pero en especial a Carlos y Erandi que desde el primer día estuvieron con disposición de ayudarme y enseñarme como se maneja el laboratorio pero sobre todo por vivir una de las experiencias más grandes en mi vida, mil gracias a los dos.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
2.1. Características de la familia Ictaluridae	4
2.2. Características y problemática del género <i>Ictalurus</i>	5
2.3. Diversidad genética	8
2.4. ADN mitocondrial	9
2.5. Replicación del genoma mitocondrial	11
2.6. Genes mitocondriales	11
2.7. Filogenia	14
2.7.1 Filogenia del género <i>Ictalurus</i>	15
III. HIPÓTESIS	18
IV. OBJETIVOS	19
4.1. Objetivo general	19
4.2. Objetivos particulares	19
V. MATERIALES Y MÉTODOS	20
5.1. Obtención de tejidos	20
5.2. Extracción y análisis de ADN	21
5.3. Diseño y uso de oligonucleótidos	21
5.4. Condiciones de PCR	22
5.5. Electroforesis de los productos de PCR	23
5.6. Secuenciación y análisis del ADN mitocondrial	24

5.7. Análisis filogenético	24
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	27
6.1. Estructura y organización genómica	27
6.2. Composición nucleotídica	29
6.3. Genes codificadores de proteínas	30
6.4. Unidades ribosomales	31
6.5. Región control	32
6.6. ARN's de transferencia	36
6.7. Análisis filogenéticos	40
<b>VII. CONCLUSIONES</b>	46
<b>VIII. RECOMENDACIONES</b>	48
<b>IX. LITERATURA CITADA</b>	50



## RESUMEN

Los bagres son un grupo de peces dulceacuícolas muy diversos que ocupan uno de los primeros lugares entre la diversidad de los vertebrados. Nuestro país es considerado el centro de especiación del género *Ictalurus*, de donde se ha logrado identificar al bagre de Sinaloa como una nueva especie del complejo de bagres nativos en base a estudios morfológicos y evidencia molecular. La información obtenida en este estudio sobre la estructura genética y el análisis de sus relaciones filogenéticas son buenos argumentos para afirmar que es una nueva especie. El objetivo del presente trabajo es determinar la estructura y secuenciación del genoma mitocondrial del Bagre de Sinaloa *Ictalurus* sp. para conocer su origen y relaciones filogenéticas. Se obtuvo el genoma mitocondrial completo de dos haplotipos geográficos, uno del río San Lorenzo y otro del río Culiacán. La longitud de los genomas fue de 16,503 pb presentando el mismo arreglo genético que la mayoría de los vertebrados, presenta una Región Control, 13 genes codificadores para proteínas, 2 unidades ribosomales y 22 ARN's de transferencia. Los dos haplotipos presentan un contenido nucleotídico de A-T muy similar y se encontró que los codones de inicio y terminación son conservados en el género *Ictalurus*. Se determinó también la estructura secundaria de los ARNt's de ambos haplotipos mostrando algunas diferencias, el resto presentan una estructura conservada con respecto a los de *Ictalurus punctatus*. Dentro de la región control se lograron detectar las secuencias encargadas de la replicación, además de la secuencia putativa del origen de la replicación de la cadena ligera en la región WANCY. El análisis filogenético realizado bajo los criterios de distancias genéticas, máxima parsimonia y máxima verosimilitud mostró una topología de nodos consistente para nuestro grupo de interés, colocando a los haplotipos del Bagre de Sinaloa en un clado junto con *I. punctatus*, reafirmando así la monofilia que presenta el género y la familia Ictaluridae, agrupándose muy cercano también con su bagre hermano *Cranoglanis boudierius* de la familia Cranoglanididae. Nuestros resultados sugieren que bagre de Sinaloa de las cuencas de los ríos Culiacán y San Lorenzo puede considerarse como una nueva especie que requiere su descripción formal.

## ABSTRACT

Catfish are a group of very diverse freshwater fishes that occupy one of the first places among the diversity of vertebrates. Our country is considered the center of speciation in the genus *Ictalurus*, where it has identified Sinaloa catfish as a new species of native catfish complex based on morphological and molecular evidence. The information obtained in this study on the genetic structure and the analyses of their phylogenetic relationships are good arguments to claim to be a new species. The objective of this study is to determine the structure and sequencing of the mitochondrial genome of Sinaloa catfish *Ictalurus* sp. to know its origin and phylogenetic relationships. We obtained the complete mitochondrial genome of two haplotypes, one of the San Lorenzo River and other of Culiacan River. The complete mtDNA from Sinaloa catfish was 16,503 pb in length and contained 13 protein coding genes, 2 rRNA genes, 22 tRNAs genes and a control region. An analysis of the protein coding genes revealed similar A-T content and the initiation and termination codons are conserved in the genus *Ictalurus*. Also, the secondary structure of the tRNAs from both haplotypes showing some differences, the rest are structurally conserved with respect to those of channel catfish. In the control region, the sequences responsible of the mitochondrial DNA replication were identified and also the putative sequence of the replication origin of the light chain in the WANCY region. Phylogenetic analysis conducted under the criteria of genetic distances, maximum parsimony and maximum likelihood showed a consistent node topology for our group, and placing the Sinaloa Catfish haplotypes on a clade together with *I. punctatus*, reaffirming the monophyly of the genus and the Ictaluridae family, grouped very close with his close relative *Cranoglanis boudierius* of Cranoglanididae. Our results suggest that Sinaloa catfish from the of Culiacan and San Lorenzo rivers basins can be considered as a new species that requires its formal description.

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Mapa del genoma mitocondrial de vertebrados. Modificado por Waldbieser <i>et al.</i> (2003). Los genes que se muestran fuera y dentro de la molécula se transcriben en la primera cadena como en la cadena complementaria. <i>CYTB</i> = citocromo b, <i>CO</i> = citocromo oxidasa, <i>ATP</i> = Subunidades de la <i>ATP</i> sintasa. Genes ribosomales <i>12S</i> y <i>16S</i> . Genes de los ARN de transferencia indicados por su abreviación de tres letras.	10
2	Estudio sobre las relaciones filogenéticas de los bagres del género <i>Ictalurus</i> , modificado de Lundberg (1992).	16
3	Secuencias conservadas obtenidas por el alineamiento de la Región Control de <i>Ictalurus</i> sp. de los ríos Culiacán y San Lorenzo junto con tres especies de Siluriformes.	35
4	Estructuras secundarias que se mantienen conservadas entre los dos haplotipos de bagre de Sinaloa con <i>I. punctatus</i> .	37
5	Estructuras secundarias de los ARNt del bagre de Sinaloa comparada con <i>I. punctatus</i> . Los círculos representan la diferencia del haplotipo 1 del río San Lorenzo con el Haplotipo 2 del río Culiacán y los cuadrados representan las diferencias en composición de bases con <i>I. punctatus</i> .	38
6	Árbol de Neighbor Joining de distancias genéticas bajo el criterio de Kimura 2 parámetros de especies de la familia Ictaluridae y de familias selectas de Siluriformes, incluyendo a <i>Oncorhynchus mykiss</i> como grupo externo. Los números en los nodos indican los valores de bootstrap obtenidos.	41
7	Árbol filogenético bajo el criterio de máxima parsimonia (MP) para 25 genomas mitocondriales completos de especies de la familia Ictaluridae y de familias selectas de Siluriformes, incluyendo a <i>Oncorhynchus mykiss</i> como grupo externo. Los números en los nodos representan el valor de bootstrap obtenidos.	42
8	Árbol filogenético bajo el criterio de máxima verosimilitud (ML) para 25 genomas mitocondriales completos de especies de la familia Ictaluridae y de familias selectas de Siluriformes, incluyendo a <i>Oncorhynchus mykiss</i> como grupo externo. Los números en los nodos representan el valor de bootstrap obtenidos.	43

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Clasificación taxonómica de las especies nominales del género <i>Ictalurus</i> descritas a la fecha de acuerdo a Miller <i>et al.</i> (2005).	5
2	Localidades de recolecta de los bagres nativos utilizados en este estudio. Las localidades fueron tomadas de Varela-Romero (2007).	20
3	Características de los oligonucleótidos diseñados para la amplificación y secuenciación del genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa por PCR.	22
4	Lista de especies utilizadas para el análisis filogenético.	26
5	Organización del ADN mitocondrial de dos haplotipos geográficos del Bagre de Sinaloa, <i>Ictalurus</i> sp. H = cadena pesada, L, cadena ligera.	28
6	Porcentaje de A+T del ADN mitocondrial de los dos haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa <i>Ictalurus</i> sp. Las abreviaciones de los genes fueron tomadas de la tabla.	29
7	Genes que codifican para proteínas del genoma mitocondrial completo de bagre de Sinaloa basado en el análisis de dos haplotipos geográficos. Los valores representan el tamaño en pares de bases de los genes y los codones de inicio y terminación en negritas representan diferencias de los haplotipos del bagre de Sinaloa e <i>I. punctatus</i> con el resto de los Siluriformes analizados. Las abreviaciones de los genes fueron tomadas de la tabla 4.	31
8	Comparación de la longitud y porcentaje A+T de las unidades ribosomales <i>12S</i> y <i>16S</i> del bagre de Sinaloa basado en el análisis de dos haplotipos geográficos con el de otras especies.	32

## I. INTRODUCCIÓN

Los peces representan uno de los grupos de vertebrados más numeroso en el planeta con aproximadamente 24,000 especies (Lagler *et al.* 1984; Nelson, 2004). Entre los peces, los bagres son un grupo muy diverso y ocupan un lugar importante entre la biodiversidad de los vertebrados, representan un 10% del total de peces de agua dulce y 5% de todos los vertebrados a nivel mundial. El cultivo de bagres representa una de las industrias acuícolas más importantes debido a su distribución mundial y su gran diversidad poseen un gran interés dentro de las actividades acuícolas (Jolly *et al.* 2001; Lundberg, 2003).

Las investigaciones sobre la diversidad de peces dulceacuícolas nativos de Sonora es relevante porque forman parte del patrimonio regional y global (Minckley, 1965), el conocimiento de la diversidad íctica, historia y evolución de las especies es necesario para conocer el papel que representan los peces en nuestro ecosistema. Dentro de los principales factores que afectan a las poblaciones de peces nativos se encuentran la forma inadecuada de utilizar los recursos hidrológicos destinados para actividades productivas como son las agropecuarios, mineros, industriales y domésticos; al igual que las alteraciones físicas de sus hábitats naturales por la construcción de presas, camino y puentes, el incremento en el uso de agentes contaminantes y en gran medida por la introducción de especies exóticas a su área de distribución (Meffe y Vrijenhoek, 1988; Varela-Romero, 1995). Los impactos negativos sobre las poblaciones de peces nativos son la competencia, desplazamiento y la hibridación, ocasionando la destrucción y reducción de los hábitats acuáticos naturales disponibles y la destrucción de sus poblaciones (Contreras-Balderas y Escalante, 1984; Taylor *et al.* 1984; Moyle *et al.* 1986; Light y Marchetti, 2007).

El orden Siluriformes al cual pertenecen los bagres está constituido por 34 familias, alrededor de 402 géneros y más de 2,400 especies (Nelson, 2004). En nuestro país existen de forma natural tres familias de bagres, dentro de las cuales la familia Ictaluridae es el único

grupo de bagres dulceacuícolas pertenecientes a Norteamérica y América Central (Lundberg, 1992; Miller *et al.* 2005). La familia Ictaluridae comprende siete géneros entre ellos el género *Ictalurus*, único género nativo registrado para el noroeste y centro de México, sus especies habitan las vertientes de las cadenas montañosas del país y cuenta con ocho especies (Mayden *et al.* 1992; Lundberg, 1992; Rutter, 1968). Actualmente se considera a México centro de especiación para este género y lamentablemente siete de sus especies se encuentran en peligro de extinción (Miller *et al.* 2005).

El conocimiento de las especies de bagres nativos ha sido difícil en los últimos años. Uno de los problemas es la dificultad de obtener ejemplares en suficiente número y con representatividad distribucional de estos bagres nativos. Se conoce de la existencia de poblaciones nativas de *Ictalurus* localizadas en la parte superior del Río Panuco y asignadas originalmente a *I. mexicanus*, sin embargo Miller *et al.* (1959) y Miller *et al.* (2005) indican que estas poblaciones representan al menos una especie diferente aun sin describir. Al igual que con el bagre del Lerma, *Ictalurus dugesii*, se han encontrado poblaciones en las cuencas de los Ríos Armería, Grande de Santiago y Balsas representando diferentes taxa las cuales tampoco han sido descritas (Miller *et al.* 2005). La dificultad de recolectar ejemplares de todos estos bagres en números suficientes impide reconocer la situación críptica en torno a las especies nominales conocidas hasta ahora, condición que se extiende al caso del bagre de Sinaloa.

El único miembro descrito del género *Ictalurus* para el noroeste de México, *Ictalurus pricei* o bagre yaqui, se encuentra protegido por los gobiernos Mexicano y en Estados Unidos como una especie amenazada y en peligro de extinción, respectivamente (Miller *et al.* 2005; Varela-Romero y Hendrickson, 2009; SEMARNAT, 2010). Existe un complejo de bagres nativo de las cuencas del Pacífico de la Sierra Madre Occidental y de las cuencas interiores del Noroeste de México que se asocia a la morfología del bagre yaqui, *I. pricei* (Varela-Romero *et al.* 2011). Se conoce muy poco de estas especies de las cuales ahora se sabe que representan al menos una especie de *Ictalurus* no descrita para la ciencia y que se distribuyen en las cuencas de los ríos Sinaloa, Culiacán y San Lorenzo (Varela-Romero *et al.* 2011).

Los estudios para conocer las relaciones filogenéticas a niveles superiores como los de familias entre los bagres se basan principalmente en datos morfológicos (Mo, 1991; Britto, 2003; Rodiles-Hernández, 2005) y recientemente a nivel molecular (Hardman, 2002, 2005; Sullivan *et al.* 2006). La importancia de las especies nativas de Sonora puede observarse desde diferentes perspectivas, desde el conocimiento de su origen, evolución y biogeografía, así como de su sistemática y taxonomía basadas en marcadores tanto morfológicos y moleculares. Varela-Romero (2007) analizó las relaciones filogenéticas del complejo *pricei* utilizando la variación molecular de los genes mitocondriales *CYTB* y *12SrRNA*, mostrando a los bagres nativos como un grupo monofilético a niveles taxonómicos superiores y la inferencia reportada utilizando genes mitocondriales mantiene a los bagres asiáticos de la familia Cranoglanididae como el taxa hermano de los Ictalúridos americanos (Waldbieser *et al.* 2005; Hardman, 2005).

Actualmente el único estudio sobre secuenciación y estructura completa del genoma mitocondrial del género *Ictalurus* es sobre el bague de canal *Ictalurus punctatus* (Waldbieser *et al.* 2003). El presente trabajo propone analizar todo el genoma mitocondrial completo del bague de Sinaloa e identificarlo como una nueva especie perteneciente al complejo de bagres nativos del Noroeste de México. La caracterización molecular del genoma mitocondrial de las especies de bagres nativos como el de Sinaloa, así como sus relaciones filogenéticas son necesarias para atacar la problemática que amenaza a estas especies y son las bases esenciales para proponer estrategias de conocimiento para el manejo de la biodiversidad nacional. El conocimiento del genoma de los bagres es un recurso a nivel regional en peligro de extinción, de aquí la importancia de conocer la estructura, historia natural y el origen de la variación genética de los genomas mitocondriales de especies nativas como información básica para comprender la evolución de las especies de bagres mexicanos, además que representa una contribución a la genómica de especies de interés para la conservación y economía del desarrollo regional.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Características de la familia Ictaluridae

La familia Ictaluridae es una de las 31 familias que pertenecen al orden Siluriformes, siendo la única familia de bagres de agua dulce de Norteamérica (Burgess, 1989). Se distribuyen desde la Bahía de Hudson en Canadá, hasta América Central en el Río Usumacinta en Guatemala a lo largo del litoral oriental y en la vertiente Pacífico de México. Esta familia se integra por siete géneros que incluyen aproximadamente 50 especies (Hardman, 2005; Lundberg, 1992; Miller *et al.* 2005) (Tabla 1). En nuestro país, existen tres familias de bagres dulceacuícolas (Ictaluridae, Pimelodidae, Lacantunidae) donde la familia Ictaluridae es la de mayor importancia comercial conformada por especies como el bagre azul *I. furcatus* y de canal *I. punctatus*, con un gran interés para la acuicultura y la pesca por su excelente calidad (Burgess, 1989).

Morfológicamente, las especies de la familia Ictaluridae presentan un cuerpo alargado, piel lisa o desnuda (carente de escamas), gruesa y generalmente de color oscuro. Su característica principal es que presentan 4 pares de barbillas largas alrededor de la boca (2 nasales, 2 maxilares y 4 en la parte inferior de la mandíbula), sus mandíbulas están compuestas por dientes viliformes y presentan una espina en el borde anterior de las aletas dorsal y pectorales (Burgess, 1989; Lundberg, 1992). Todas las especies que pertenecen a esta familia tienen un ancestro común, que de acuerdo a diferentes estudios, parece tener afinidad cercana a las especies de la familia de bagres asiáticos Cranoglanididae (Hardman, 2005; Sullivan *et al.* 2006). Los bagres de esta familia presentan hábitos nocturnos y viven la mayoría del tiempo en aguas turbias. Su alimentación consta de artrópodos, algas, larvas, renacuajos y material muerto (Burgess, 1989). Su entorno se ve favorecido por el ciclo hidrológico en los ríos que conforman la cuenca, lo que le confiere una mayor diversidad de recursos nutritivos y provee un ambiente propicio para su reproducción. Presentan un



crecimiento lento y su reproducción es estacional con una gran adaptación a los cambios de nivel de agua de los afluentes de la cuenca y las lluvias. Sus migraciones se presentan durante algunos periodos de primavera y los primeros meses del verano para desovar y depositar los huevos en nidos que construyen en la arena (Burgess, 1989).

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de las especies nominales del género *Ictalurus* descritas a la fecha de acuerdo a Miller *et al.* (2005).

<b>Taxón</b>	<b>Nombre</b>
<b>Reino</b>	Metazoa
<b>Phylum</b>	Chordata
<b>Clase</b>	Actinopterygii
<b>Orden</b>	Siluriformes
<b>Familia</b>	Ictaluridae
<b>Género</b>	<i>Ictalurus</i>
<b>Especie</b>	<i>Ictalurus punctatus</i>
	<i>Ictalurus lupus</i>
	<i>Ictalurus dugesii</i>
	<i>Ictalurus mexicanus</i>
	<i>Ictalurus pricei</i>
	<i>Ictalurus furcatus</i> *
	<i>Ictalurus balsanus</i>

\* Actualmente sus poblaciones sureñas son reconocidas como *Ictalurus meridionalis* (Page *et al.*, 2013).

## 2.2. Características y problemática del género *Ictalurus*

El género *Ictalurus* es el único género registrado para el Noroeste de México (Rutter, 1896). Este género se caracteriza por presentar una aleta caudal furcada, la mandíbula superior se proyecta sobre la inferior y la parte posterior de la espina dorsal presenta dientes a manera de sierra (Miller *et al.* 2005). En México podemos encontrar al menos siete especies, el bagre

azul *I. furcatus*, el bagre del balsas *I. balsanus*, el bagre de canal *I. punctatus*, el bagre lobo *I. lupus*, el bagre del Lerma *I. dugesii*, el bagre mexicano *I. mexicanus*, el bagre yaqui *I. pricei* (Lundberg 1992) y el bagre azul sureño *I. meridionalis* (Page *et al.* 2013). Actualmente ocho Ictalúridos se consideran endémicos del territorio nacional, como *Prietella hundbergi* y *Prietella phreatophila* que están consideradas en peligro de extinción y tres (*I. pricei*, *I. mexicanus*, *I. lupus*) las podemos encontrar bajo la categoría de protección especial (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002). El bagre Yaqui es la púnica especie registrada para el Noroeste de México y se distribuye desde la cuenca de los Ríos Yaqui y Mayo en Sonora, Chihuahua y el sur de Arizona, hasta el Río Fuerte en Sinaloa (Miller *et al.* 2005; Varela-Romero *et al.* 2011). Habita en corrientes moderadas con sustrato lodoso, arenoso y rocoso. Los adultos ocupan aguas profundas durante el día, moviéndose hacia las corrientes y aguas quietas en la noche para alimentarse (Burgess, 1989). Existe reportes donde podemos encontrar una similitud morfológica entre el bagre Yaqui y el bagre de canal por lo que podemos esperar una similitud también en su ecología y conducta (Minckley, 1973).

Los caracteres más empleados para separar al bagre Yaqui del resto de sus congéneres y principalmente del bagre de canal, exótico con el cual coexiste en el medio natural, han sido el número de radios en la aleta pectoral, el número de branquiespinas (16-24), el grado de unión entre los huesos supraoccipital y supraneural (no hay unión), la longitud de hueso cleitra menor en bagre Yaqui, la longitud de la base de la aleta anal (menor en esta especie) y el número de radios en la aleta anal que es de 23 a 25 (Minckley, 1973).

Una de las consecuencias del desarrollo económico es la inadecuada utilización de los recursos hidrológicos para actividades productivas, al igual que las alteraciones físicas en los hábitats naturales de estas especies por la construcción de presas y el aumento del uso de agentes contaminantes (Meffe *et al.* 1988; Varela-Romero y Hendrickson, 2009). Esto provoca una reducción de los hábitats naturales que están disponibles para los peces nativos y sus migraciones naturales, sumando a esto la introducción de especies de peces exóticos en las cuencas hidrológicas de nuestro estado junto con los estados de Baja California, Chihuahua, Sinaloa, Arizona y Nuevo México. Estos peces exóticos están remplazando a las poblaciones de los peces nativos debido a la competencia por alimento, espacio y otros recursos generando

así impactos negativos a las poblaciones de importancia para la diversidad de nuestro país (Juárez-Romero *et al.* 1989; Varela-Romero y Hendrickson, 2009).

Se ha reportado una reducción considerable del área de distribución y abundancia del bagre Yaqui resultado del impacto de la construcción de presas y la competencia e hibridación con el bagre de canal, además ha sido extirpado de las cuencas de los ríos Sonora y Casas Grandes, por lo que se considera una especie en riesgo (Varela-Romero, 1995; Varela-Romero, 2007). Por su importancia comercial y deportiva, los bagres de canal *I. punctatus* y azul *I. furcatus*, han sido introducidos en la región de Sonora, Sinaloa y Chihuahua (Varela-Romero, 1995; Varela-Romero, 2007). Se han recolectado especímenes de bagres nativos en las cuencas de los ríos Fuerte hasta el Presidio en el sur de Sinaloa, que han sido reconocidos como un grupo de bagres nativos con una forma similar a la del bagre Yaqui sin embargo, esto no concuerda completamente con las características diagnósticos que definen a la especie, por lo que se les reconoce como complejo de especies *pricei* (Miller 1959, 1976, 1978, 1986; Minckley y Gilbert, 1980; Hendrickson *et al.* 1981; Hendrickson, 1984; Minckley *et al.* 1986; Smith y Miller 1986; Varela-Romero *et al.* 2011). La distribución de este complejo *pricei* en las cuencas de los ríos Sinaloa, Culiacán y San Lorenzo, representan al menos una especie distinta del bagre Yaqui (Varela-Romero *et al.* 2011). Dentro de este complejo de bagres aun no descritos encontramos al bagre de Sinaloa que morfológicamente difiere del bagre Yaqui presentando un número menor de radios en la aleta anal (20-21) y del tamaño de la cabeza, por lo que debe describirse como un taxón nuevo, que requiere de análisis moleculares y morfológicos más completos y determinar una categoría de protección adecuada que refleje su situación actual (Varela-Romero *et al.* 2011).

De la misma forma, Miller *et al.* (1956), han mencionado la existencia de poblaciones de *Ictalurus* localizadas en la parte superior del Río Pánuco y asignadas originalmente a *I. mexicanus*, sin embargo Miller *et al.* (2005) indican que estas poblaciones representan al menos una especie diferente aun sin describir. Una situación semejante se ha mencionado con *Ictalurus dugesii* o el bagre del Lerma, se han encontrado poblaciones en las cuencas de los Ríos Armería, Grande de Santiago y Balsas representando diferentes taxa las cuales tampoco han sido descritas (Miller *et al.* 2005). El problema principal sobre el conocimiento de estas

nuevas especies, es la dificultad de recolectar ejemplares de todos estos bagres en números suficientes para lograr reconocer su situación críptica en torno a las especies nominales conocidas hasta ahora. El bagre de Sinaloa es claramente una de estas formas nativas que han permanecido ocultas para los investigadores en los últimos años.

### **2.3. Diversidad Genética**

La diversidad de especies es el componente de la diversidad biológica que más atención presenta, por la importancia de la especie como unidad biológica y la relativa facilidad con la que puede medirse. Sin embargo, hay aspectos de la biodiversidad de los cuales se desconocen los mecanismos que requieren explicaciones a nivel genético y ecológico (Gaston, 2000). Los marcadores genéticos que más se han empleado son los marcadores morfológicos, tipos sanguíneos, inversiones cromosómicas, aloenzimas y a partir de los años 80's los marcadores con base en la secuencia de nucleótidos (ADN). La genética de poblaciones tiene como objeto determinar que tanta diversidad genética existe en las poblaciones naturales y los cambios que ocurren a nivel genético dentro y entre poblaciones, como la adaptación, la especiación y el origen, abordando las causas de la evolución teniendo una posición dentro de la biología evolutiva. Como unidad básica para el análisis se utiliza al gen y sus variantes (alelos), sobre los patrones de variación en poblaciones y su asociación con factores del medio ambiente (Futuyma, 1998).

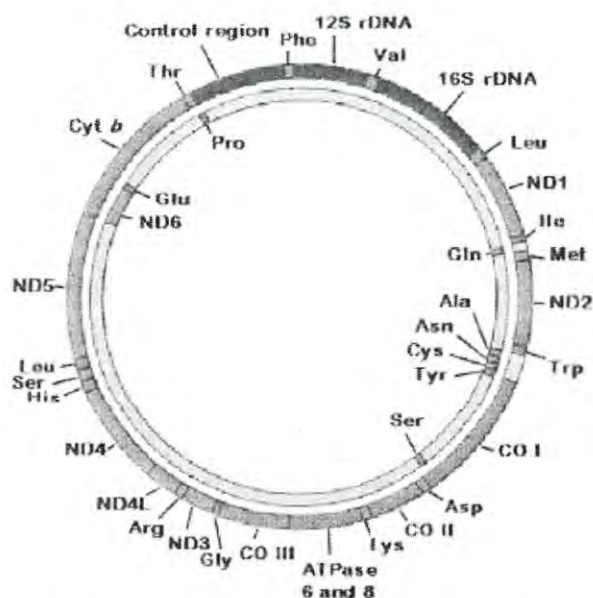
Un marcador molecular es una característica propia a nivel molecular de los organismos que nos permite identificarlos y compararlos con otros organismos. Los marcadores moleculares nos ayudan a conocer las diferencias genéticas de una población, a nivel de familias e individuos (Varela-Romero, 2007). Las técnicas moleculares han enriquecido el estudio de la sistemática de los peces y forman parte del complemento de los estudios de caracteres morfológicos. La información molecular ha sido muy útil para evaluar las relaciones filogenéticas y zoogeográficas entre las poblaciones de peces (Stepien *et al.* 1997).

Los marcadores de ADN evalúan la variación que ocurre a nivel de secuencias de nucleótidos, por esto se consideran más precisos que las aloenzimas. Otros marcadores que son muy utilizados son los polimorfismos de los fragmentos de restricción (RFLPs), ADN polimórfico amplificado al azar (RAPDs), polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados (AFLPs), la secuencias internas simples repetidas (ISSR) y los microsatélites. Si se requiere de información más completa sobre la variación en regiones específicas del genoma de cualquier organismo se utiliza la técnica de secuenciación de manera directa del ADN nuclear y genoma mitocondrial (ADNmt), que proporciona información directa del genoma en estudio (Schlötterer, 2004).

#### **2.4. ADN mitocondrial**

El genoma mitocondrial es una molécula circular de doble hélice muy utilizado para los análisis de variabilidad genética, estudios de evolución y filogenia por poseer diferentes niveles de conservación en sus genes y no presentar recombinación debido a su herencia uniparental (Rand, 2001). Esto debido a que el espermatozoide no aporta citoplasma a la célula huevo y el óvulo aporta siempre el citoplasma donde encontramos a las mitocondrias, por lo que cabe esperar que en los animales superiores la herencia sea uniparental impidiendo la recombinación (Stepien *et al.* 1997). El ADN mitocondrial en vertebrados presenta entre 103 a 104 copias por célula, un tamaño de 16 a 18 kb y puede aislarse como una molécula circular (Shadel *et al.* 1993). Se compone de 13 genes polipeptídicos de la cadena respiratoria, sus productos se encuentran localizados en la membrana mitocondrial y son esenciales para la producción de *ATP*. También presenta dos ARNs ribosomales (*ARNr*) y 22 ARNs de transferencia (*ARNt*) (Figura 1, Waldbieser *et al.* 2003). La composición del genoma mitocondrial en vertebrados es conservada dentro de un patrón general entre sus especies (Boore, 1999), sin embargo las secuencias nucleotídicas y la organización de los elementos reguladores de los procesos de transcripción y replicación del genoma mitocondrial presenta una variación considerable (Shadel *et al.* 1997). El ADNmt se compone de una cadena pesada (H-strand), donde se encuentra la mayor parte de las secuencias de codifican para 12 polipéptidos, 14 *ARNt* y 2 *ARNr*. La cadena ligera (L-strand) sólo codifica para un polipéptido y ocho *ARNt*. Una cadena se diferencia de la otra en función de su contenido en G-T (Shadel

*et al.* 1997). Una de las principales características que presenta el ADN mitocondrial y que le ha ayudado para ser utilizado como marcador para evaluar la filogenia de una gran variedad de especies es su elevada frecuencia de mutaciones, de 5 a 10 veces superior al ADN nuclear (Hoelzel *et al.* 1991), esta elevada tasa se asocia a la presencia de los radicales libres por el daño oxidativo generado durante el transporte de electrones a través del proceso de respiración celular, es mayor debido a la carencia de histonas y la falta de mecanismos de reparación del ADN, por lo que este proceso mutacional es una fuente rica de variabilidad de los genes que forman el ADNmt. Esta variabilidad en la longitud del genoma mitocondrial es una característica común presente en la molécula y se ha observado en numerosas especies de peces.



**Figura 1.** Mapa del genoma mitocondrial de vertebrados. Modificado por Waldbieser *et al.* (2003). Los genes que se muestran fuera y dentro de la molécula se transcriben en la primera cadena como en la cadena complementaria. *CYTb* = citocromo b, *CO* = citocromo oxidasa, *ATP* = Subunidades de la *ATP* sintasa. Genes ribosomales *12S* y *16S*. Genes de los ARN de transferencia indicados por su abreviación de tres letras.

## 2.5. Replicación del genoma mitocondrial

La replicación del ADNmt es asimétrica esto se debe a la presencia de dos orígenes de replicación, uno para la cadena pesada ( $O_H$ ) y otro para la cadena ligera ( $O_L$ ) (Shadel *et al.* 1993). El primer origen de replicación ( $O_H$ ) inicia en la región control hacia el gen citocromo b (*CYTB*) y comienza a desplazarse a lo largo del genoma circular. Cuando la horquilla de replicación alcanza el segundo origen de replicación ( $O_L$ ), representada por una estructura en forma de tallo, la replicación complementaria se inicia en dirección opuesta de regreso hacia el gen citocromo c oxidasa I (*COI*). Después de que la horquilla de replicación de la primera cadena pasa por el segundo origen de replicación, la primera cadena permanece como cadena sencilla hasta que la horquilla de replicación de la segunda cadena complementaria la convierte en un hebra doble. Durante el tiempo en el que la primera cadena permanece en forma de cadena sencilla es expuesta a un ambiente oxidativo producido por los radicales libres generados durante el transporte de electrones en el proceso de respiración celular (Tanaka *et al.* 1994).

## 2.6. Genes mitocondriales

Recientes estudios sobre relaciones filogenéticas en vertebrados a nivel molecular se han enfocado en secuencias completas de genomas mitocondriales. La variación genética diferencial entre los genes mitocondriales es una característica natural de la molécula ocasionada por la replicación asimétrica promovida por sus dos orígenes de replicación, derivando un proceso mutacional característico. El arreglo de los genes y su variación es característico de cada especie, por lo que los estudios sobre filogenia utilizando ADN mitocondrial presentan un alto poder resolutivo (Avise, 1994). Se han utilizado genes que codifican para proteínas como el citocromo b (*CYTB*) que permite reconocer variaciones a nivel de especie y genes de mayor conservación como las unidades *12S RNAr* y *16S RNAr* que ofrecen información a niveles taxonómicos superiores como los de familias (Stepien *et al.* 1997; Varela-Romero, 2007). De esta manera los distintos niveles de conservación que presentan los genes han permitido llevar a cabo una caracterización de diversos patrones de variación a diferentes niveles y ha permitido construir inferencias filogenéticas para su

organización taxonómica (Hardman *et al.* 2003, 2005). Los distintos niveles de conservación de los genes mitocondriales han sido utilizados para evaluar las relaciones filogenéticas entre diferentes Siluriformes y en especial en bagres de Norteamérica (Hardman *et al.* 2002; Hardman *et al.* 2003).

Actualmente existe poca información a nivel molecular relacionada con la filogenia y evolución del grupo de Ictalúridos que habitan en México. Las investigaciones han tomado como base genes mitocondriales con un alto nivel de conservación como las unidades ribosomales *12S RNAr* y *16S RNAr* y aquellos que codifican para proteínas como el *CYTB* (Hardman, 2002; Wilcox *et al.* 2004) donde solamente se ha incluido a alguna especie de *Ictalurus*. Las unidades ribosomales se usan por su alto grado de conservación y a que proporcionan información concisa sobre las relaciones filogenéticas a niveles taxonómicos superiores como familias (Milinkovitch *et al.* 1993). Los genes que codifican para proteínas como el *CYTB* presentan un mayor grado de variación debido a la presencia de codones sinónimos, por lo que han tenido múltiple aplicación a nivel molecular para las relaciones filogenéticas entre especies de un mismo género (Hardman *et al.* 2003) y este es quizá el gen mejor estudiado en peces. Las investigaciones que pretenden conocer las relaciones filogenéticas de diferentes especies necesitan incluir genes con diferentes niveles de variación como los que presentan las subunidades ribosomales y proteínas para poder determinar las relaciones a niveles tanto inferiores como superiores de la clasificación taxonómica.

La región control es la encargada de la replicación y transcripción del ADN mitocondrial tiene un tamaño de 888 a 1223 pb, generalmente en su estructura posee segmentos en tándem repetidos y un conjunto de bloques de secuencias conservadas involucradas en los procesos de replicación y transcripción, los que resultan útiles en estudios de sistemática molecular (Faber y Stepien, 1998). También se reconoce su utilidad en estudios de estructura poblacional y de relaciones entre especies muy cercanas de peces (Sturmbauer y Meyer, 1992, 1993; Lee *et al.* 1995).

La información obtenida sobre estas relaciones en estudios de uno o varios genes mitocondriales ha resultado positiva tanto a nivel especie como de familia. Sin embargo, no se



compara con los datos que podemos obtener si se realizan estudios comparando genomas completos para determinar inferencias filogenéticas. Los avances a nivel molecular han ayudado a facilitar la obtención de genomas mitocondriales completos en varias especies de peces dando como resultado una mayor información y con menos margen de error por el aumento de secuencias para los estudios de estas inferencias filogenéticas (Zwickl y Hillis, 2002). La inferencia de las relaciones filogenéticas de metazoarios utilizando las secuencias de los genomas mitocondriales completos ha resultado muy popular en los últimos años (Boore *et al.* 2005) por lo que es relativamente fácil trabajar con la secuencia completa del genoma mitocondrial de otros bagres Siluriformes como el bague gigante del Mekong, *Pangasianodon gigas* (Jondeung *et al.* 2007), el bague toro, *Liobagrus obesus* (Kartavtsev *et al.* 2007), el bague Chino trompudo, *Leiocassis longirostris* (Wang *et al.* 2011) y del bague hermano asiático más cercano a la familia Ictaluridae (Sullivan *et al.* 2006), el bague armado, *Cranoglanius boudierius* (Peng *et al.* 2006). En el caso de la familia Ictaluridae y más aún del género *Ictalurus*, sólo contamos con la secuencia del genoma mitocondrial completo del bague de canal *I. punctatus* (Waldbieser *et al.* 2003).

La estructura del genoma mitocondrial del bague de canal es muy parecida a la de otros vertebrados con un orden idéntico de genes y una poliadenilación en el transcrito para formar codones de terminación en los genes *ATP8*, *ATP6*, *ND4L* y *ND5*. Las comparaciones en la secuencia de nucleótidos de los genes *CYTB* y *COI* demostraron una separación genética entre los géneros *Ictalurus*, *Pylodictis* y *Ameiurus* (Waldbieser *et al.* 2003), lo que resulta coherente con la clasificación taxonómica dentro de la familia Ictaluridae (Hardman y Page, 2003; Waldbieser *et al.* 2003; Varela-Romero, 2007). En otros estudios filogenéticos basados en secuencias aminoacídicas de los genes que codifican para proteínas y secuencias nucleotídicas de genes como las unidades ribosomales *12S ARNr* y *16S ARNr* obtenidos a partir de la secuencia completa del genoma mitocondrial del bague gigante de Mekong *Pangasianodon gigas* (Jondeung *et al.* 2006) especie en peligro de extinción, han demostrado una relación más estrecha con las especies de la familia Siluridae, esto basado en los análisis filogenéticos con criterios de mínima evolución, máxima parsimonia, máxima verosimilitud e inferencia bayesiana, presentando una estructura genómica muy similar a la del bague de canal.

Otros estudios en bagres con la misma finalidad han demostrado resultados similares (Kartavtsev, 2007). El genoma mitocondrial del bagre cabeza toro *Liobagrus obesus* fue secuenciado utilizando la técnica "primer walking", los resultados en ese estudio apoyaron la hipótesis de que la especiación en el orden de los Siluriformes en la mayoría de los casos sigue un patrón geográfico, a través de la acumulación de numerosos cambios genéticos durante un largo periodo de tiempo. El genoma mitocondrial del bagre armado *Cranoglanis boudierius* (Peng *et al.* 2006) muestra un tamaño de 16,539 pb con una estructura igualmente parecida a las otras especies con una Región Control, 13 genes codificadores de proteínas, dos ARNr y 22 de ARNt. En estudios recientes sobre relaciones filogenéticas analizando secuencias completas de ADN mitocondrial podemos ver que los cranoglaníidos aparecen como grupos hermanos de los ictalúridos.

En la actualidad ha sido difícil encontrar relaciones filogenéticas contundentes entre los estudios morfológicos y los moleculares debido principalmente a la imposibilidad de identificar linajes y caracteres homólogos entre ellos. Las investigaciones en genomas de especies de bagres del género *Ictalurus* son muy importantes para conocer su genómica evolutiva. En los últimos años se han incrementado los avances en este tipo de estudios, incluyendo el desarrollo de un gran número de marcadores moleculares, la construcción de mapas de ligamiento genético y el desarrollo de recursos genómicos (Jolly *et al.* 2001; Zhanjiang, 2003).

## **2.7. Filogenia**

Las especies por sí mismas presentan una gran diversidad, sin embargo es necesario que también presenten similitudes que son útiles para poder clasificar o caracterizar a los grupos de organismos y distinguirlos de otros y así poder agruparlos de acuerdo a su origen. La información genética ha sido utilizada como base primaria de unidades evolutivas para especies que se encuentran amenazadas siendo uno de los retos más grandes a los que se enfrenta la biología de la conservación. La filogenia es la forma más simple de mostrar la

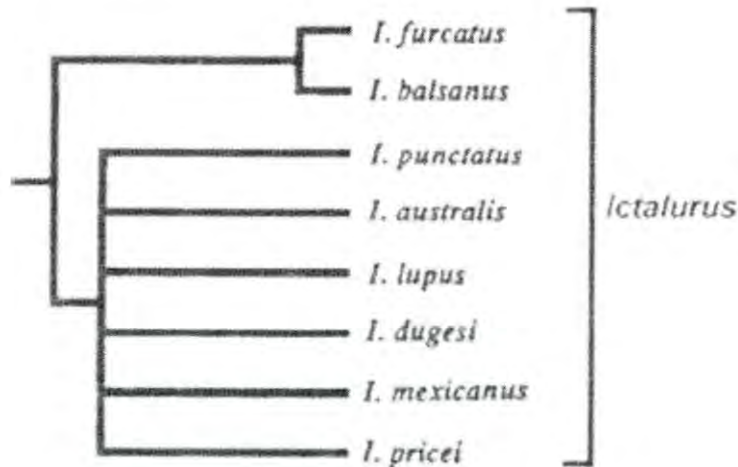
clasificación de los organismos de una forma conveniente para conocer la historia evolutiva de un grupo o linaje (Dobzansky *et al.* 1977).

El conocimiento que existe sobre la filogenia de los bagres se basa en estudios con caracteres morfológicos y moleculares sobre relaciones a nivel familia, género y especie pero lamentablemente aún falta mucho por estudiar (Hardman, 2005; Lundberg, 2003). Las características que posee el ADN mitocondrial de ser una molécula uniparental y no presentar recombinación, forma parte de la base para resolver problemas filogenéticos. Los estudios sobre filogenia basada en el análisis del gen mitocondrial Citocromo b (*CYTB*) y los genes nucleares *rag1* y *rag2* identifican dentro de los Siluriformes a los Cranoglánidos del Noroeste Asiático como el taxón hermano de los Ictalúridos (Hardman, 2005). Además Hardman (2005) complementó sus datos moleculares con datos biogeográficos, paleontológicos y geológicos, y sugiere que un ancestro de los Ictalúridos y Cranoglánidos encontró una ruta del Noroeste de Norteamérica proveniente del Noroeste Asiático en el Cretáceo tardío (98 a 66 millones de años).

### **2.7.1. Filogenia del género *Ictalurus***

Los únicos estudios que existen sobre las relaciones filogenéticas de la familia Ictaluridae se han realizado con datos de tipo morfológicos y paleontológicos (Lundberg, 1970). Se encontró que la familia Ictaluridae está formada por cerca de 60 especies vivientes y donde al menos 4 se encuentran extintas, además de contar con un taxón monofilético. El género *Astephus* comparte sinapomorfias (posesión en común de un carácter) con el género *Ictalurus* y es considerado como un taxón plesiomórfico (caracteres ancestrales similares). Los datos con los cuales contamos sobre la evolución de la familia nos indican una mayor complejidad que las relaciones sustentadas por la información anatómica. Es necesario un estudio filogenético de este grupo donde se pueda incorporar información a nivel molecular, morfológico y en conjunto con análisis biogeográficos para obtener un conocimiento más completo sobre esta familia. La única propuesta sobre estudios filogenéticos del género es propuesta por Lundberg (1992) que construyó un árbol filogenético utilizando rasgos morfológicos (características merísticas y morfométricas), en el que se definen principalmente

dos grupos, el clado *punctatus* donde encontramos a las especies *I. punctatus*, *I. lupus*, *I. dugesii*, *I. mexicanus* e *I. pricei* y el clado *furcatus* con las especies *I. furcatus* e *I. balsanus* (Figura 2).



**Figura 2.** Estudio sobre las relaciones filogenéticas de los bagres del género *Ictalurus*, modificado de Lundberg (1992).

Sin embargo, es muy escasa la información que se tiene sobre el género *Ictalurus* y más aún sobre las especies mexicanas. Varela-Romero (2007) estudió las relaciones filogenéticas del grupo de bagres nativos pertenecientes al clado *punctatus* en el Noroeste de México, con el objetivo de esclarecer y saber manejar la escasa información genética disponible. Analizó secuencias de genes mitocondriales *12S ARNr* y *CYTB* donde se estimaron las relaciones filogenéticas de 40 individuos de bagres nativos del género *Ictalurus* de diferentes localidades. La inferencia filogenética derivada del *CYTB* agrupa al clado *pricei* de las cuencas de los Ríos Yaquí y Fuerte, con el clado hermano de los bagres nativos de los Ríos Sinaloa, Culiacán y San Lorenzo y coloca a estos como clados hermanos del bagre lobo, *Ictalurus lupus* y del bagre del Río Conchos del noreste de México, reconociendo a los bagres nativos de los ríos Culiacán y San Lorenzo como un taxón nuevo separándolo del complejo *pricei* y muy similar al bagre Yaquí, pero presentando características diagnosticas diferentes a nivel tanto morfológico como molecular.

Por lo anterior, se deduce que el uso de genomas mitocondriales completos es una excelente herramienta para poder esclarecer la inferencia filogenética, mostrando una mayor contundencia en los resultados sobre las relaciones filogenéticas de los bagres nativos. El avance en el conocimiento de la naturaleza de genomas de bagres como el de Sinaloa representa una acción crucial para la conservación del genoma nativo de esta especie.

### III. HIPÓTESIS

El estudio de la secuencia nucleotídica y estructura del genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa, *Ictalurus* sp. del Noroeste de México nos revelará su identidad específica. Además, podremos distinguir filogenéticamente a esta unidad taxonómica al interior del género *Ictalurus* e indicar sus relaciones con otras especies del género y otros géneros nativos de la familia Ictaluridae.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo general

Secuenciar en su totalidad el genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa, *Ictalurus* sp. del Noroeste de México, conocer su estructura y las relaciones filogenéticas.

### 4.2. Objetivos particulares

1. Obtener la secuencia completa del genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa, *Ictalurus* sp. en dos regiones geográficas.
2. Conocer el arreglo de genes y la estructura del genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa, *Ictalurus* sp.
3. Comparar la estructura del genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa, *Ictalurus* sp. con el que otras especies de bagres del GenBank.
4. Evaluar las relaciones filogenéticas del bagre de Sinaloa, por medio de los genomas mitocondriales completos disponibles en el GenBank por medio de los criterios de distancias genéticas, máxima parsimonia y máxima verosimilitud.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Obtención de tejidos

Los tejidos de bagres nativos que se utilizaron para obtener el ADN para este proyecto fueron recolectados como parte del estudio sobre variabilidad genética de los bagres nativos del Noroeste de México (Varela-Romero, 2007) bajo el Permiso de Pesca de Fomento No. DGOPA.03947.250406.1606 otorgado por la CONAPESCA/SAGARPA. Las muestras se obtuvieron de la cuenca del Río San Lorenzo y de la cuenca del Río Culiacán en la vertiente Pacífico de la Sierra Madre Occidental (Tabla 2). De cada espécimen se obtuvo una muestra de 5 g de la porción interior de la aleta pélvica derecha que se fijó con etanol sin desnaturalizar al 95 % y etiquetó para depositarse junto con los ejemplares de referencia, que fueron fijados con una solución de formaldehído al 10 % y transferidos a alcohol etílico al 70 % para su conservación y depósito final en la Colección Ictiológica del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS).

**Tabla 2.** Localidades de recolecta de los bagres nativos utilizados en este estudio. Las localidades fueron tomadas de Varela-Romero (2007).

Localidad	Coordenadas	Elevación (msnm)	Fecha	Recolectores
Localidad 1. México: Durango, Cuenca del Río Culiacán, Arroyo el Rodeo, arriba del pueblo del Rodeo	24° 54.677' N 106° 46.941' O	197	28 de enero, 2006	J. Brooks, A. Varela, N. Smith, S. Sánchez-González
Localidad 2. México: Durango, Cuenca del Río San Lorenzo, Río San Lorenzo, Norte del El Igualamo	24° 41.983' N, 106° 33.233' O	300	29 de enero, 2006	J. Brooks, A. Varela, N. Smith, S. Sánchez-González



## 5.2. Extracción y análisis del ADN

El ADN total para extracción se obtuvo partir 25 mg de tejido de aletas trituradas con un homogenizador de Kontes para microtubos. Después el homogenizado fue digerido con proteinasa K y ARNasa para obtener el ADN que es precipitado con etanol de acuerdo a lo especificado por el kit de QIAamp DNA Mini Kit de la compañía QIAGEN. El sistema permite una lisis directa seguida de fijación selectiva del ADN a la membrana. Los contaminantes e inhibidores enzimáticos son removidos por centrifugación durante una lisis usando proteinasa K. Se ajusta el pH con amortiguadores para lograr una máxima fijación de ADN a la membrana, durante una corta centrifugación. Los contaminantes restantes son removidos en dos lavados y finalmente el ADN fue eluido. Se determinó la calidad y pureza del ADN por medio de un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 con absorbancias de 260-280 nm y la integridad se analizó a través de una electroforesis en geles de agarosa al 1%.

## 5.3. Diseño y uso de oligonucleótidos

La amplificación del genoma mitocondrial de cada espécimen se llevó a cabo utilizando la información generada en estudios anteriores para los genes *CYTB*, Región Control y la unidad ribosomal *12S ARNr* del bagre Yaqui y el bagre de Sinaloa ya secuenciados (Varela-Romero, 2007; Vega-Heredia, 2007). Se diseñaron oligonucleótidos para los genes *COI* y *NDH4* de *I. punctatus* (AF482987), el primero un gen muy conservado para avanzar en dirección 5' hacia el gen *12S RNAr* y 3' hacia el gen *CYTB* para así avanzar en ambas direcciones desde los genes que codifican para proteínas y genes estructurales mencionados para completar la secuencia del genoma mitocondrial. Finalmente, una vez generados nuevos fragmentos se diseñaron nuevos oligonucleótidos para obtener la totalidad del genoma mitocondrial siguiendo la técnica de "primer walking" (Tabla 3).

#### 5.4. Condiciones de PCR

Las reacciones de PCR se realizaron utilizando esferas PCR PuRe Taq Ready-to-Go (GE Healthcare), cada una contiene 200  $\mu$ M de dNTP (dATP, dCTP, dGTP), 2.25 unidades de PuRe Taq ADN polimerasa, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, estabilizadores y BSA. A cada esfera se le adicionaron entre 12-16  $\mu$ l de agua estéril mili-Q dividiendo el volumen en dos tubos de 0.5 ml en partes iguales. A cada tubo se le agregó 1.25  $\mu$ l de cada oligonucleótido dependiendo de la región o gen que se desee amplificar con una concentración de 10  $\mu$ M (Tabla 3), finalmente se añadieron 2-4  $\mu$ l de ADN de los especímenes a analizar para obtener un volumen final de 12.5  $\mu$ l en cada tubo. Se utilizó un termociclador BioRad DNA engine PTC 0200, se diseñaron programas para la amplificación de los genes con la finalidad de completar la secuenciación del genoma mitocondrial. El programa consta de los siguientes pasos: desnaturalización inicial por 5 minutos a 94°C, seguida de 34 ciclos de 50 segundos a 94°C, 1 minuto en gradiente de temperatura de 45°C a 65°C dependiendo de la temperatura de alineamiento del par de oligonucleótidos utilizados y 1 minuto a 72°C. La extensión final se realizó a 72°C durante 10 minutos. Los productos de PCR fueron almacenados a -20°C.

**Tabla 3.** Características de los oligonucleótidos diseñados para la amplificación y secuenciación del genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa por PCR.

Oligonucleótido	Secuencia	Temp. de Alineamiento	Posición
COXIII Fw	AGGAGAACGCAAACAAGCAG	63°C	10113
COXIII Rv	GTTGAGCCGATGATGACGTG	63°C	10294
ND4 Fw	TTAAAGTTAGTACGAATGACTTCC	54°C	10451
ND4 Rv	GTTTTGGTGTAGGAGGAGCAG	60°C	11733
16S rRNA Fw	CCCTCACCTTTKGCATCATGA	53°C	2183
16S rRNA Rv	CGGTCTGAACTAGATCACGTA	52°C	3485
ND5 Rv	TGACCATTACTCACTGATTTTCACC	56°C	13064
Cytb Rvin	GAGGACAAATRTCATTCTGAGG	53°C	15641
COXI Fw	CCTATTTGTCTGAGCCGTCC	60°C	6880
COXI Rv	GTGTCGTGTATTGTGTATCCTG	56°C	7558
tRNA <sup>Tyr</sup> Fw	AAACCTTTGTTCATGGAGCTAC	57°C	6281
tRNA <sup>Ser</sup> Rv	AGTGGTTATGTAAGTGGCTTGA	56°C	7943
NDH4 Fw	TGTGGCTGACGGATGAGTAG	59°C	12102

....continúa

**Tabla 3. Continuación.**

Oligonucleótido	Secuencia		Posición
tRNA <sup>A</sup> Rv	TACACCGAGAAGACATCC	51°C	1942
tRNA <sup>Leu</sup> Fw	TTTACCATGCTCTGCCAC	56°C	3665
tRNA <sup>Gly</sup> Rv	TTAAAGTTAGTACGAATGACTTCC	54°C	10451
ND1 Fw	CCGGAGGTCCTTTTCGCAC	62°C	4380
ND2 Rv	CATGTGGAAAGTGCATTGCTC	50°C	4485
12s/16s Fw	CCGTCACTCTCCCCTCTGTA	61°C	1798
12s/16s Rv	TCCTGGTGAGGTTGTGTCTT	59°C	2505
16s/N1 Fw	GACGAGAAGACCCTTTGGAG	59°C	3111
16s/N1 Rv	GCTAGACTAGAGAGGGCCAGAA	59°C	4068
N1Fw	ACTGGCCCTAACCCCTAGCA	60°C	3961
N1Rv	GATGACGTAGGGGCTCATTG	60°C	4920
N2/COI Fw	AGCTAGTTCTGCCCCGGATG	61°C	5494
N2/COI Rv	GCCTAACTGGCATCGTCCTA	60°C	6458
COI/COI <sup>Snl</sup>	GCCTAACTGGTATCGTCCTA	60°C	7389
COI/COI <sup>Rv</sup>	TACTGCTGGGAGGATGGTTC	50°C	8260
COII Fw	ACGGCTCAATGGCACATC	60°C	8040
COII Rv	GGAGGGTGAGAGCAATAGCA	61°C	9050
ATP8 Fw	CCCAACCGCCTCTAGTGATA	60°C	8795
ATP8 Rv	CAGCTACTGCTCCGGTTAGG	60°C	9724
CXIII Fw	CCCTCTAGCCCTCGGAGTC	60°C	9430
CXIII <sup>d</sup> Rv	TTGAGCCGTYCACTCCGTCT	61°C	10240
N3 <sup>d</sup> Fw	AGACGGAGTRTACGGCTCAA	64°C	10221
N3 Rv	AGTAGGGCTGAAAGCAGGTG	60°C	11021
N4L Fw	GCAGGCTTAGCCCTTCTAGT	58°C	11165
N4L Rv	GGCCTCGTTGGGACATTAAG	62°C	12474
N4/5 Fw	CACTAATTACCGCGGCCTAC	60°C	12421
N4/5 <sup>Rv</sup>	ACTGGGGTTGGGCCTTCTAT	62°C	13549
N5 <sup>d</sup> Fw	ATCTTGGCTGCYACAGGAA	60°C	13470
N5 Rv	GATGGAGACCTTTGGGTCCT	60°C	14517
N5/6 Fw	CCATGGCAGTTACGATCCTG	61°C	14290
N5/6 <sup>d</sup> Rv	GGGGCGGGTAGWTC AATTAG	62°C	15286

### 5.5. Electroforesis de los productos de PCR

Para determinar la longitud de los productos obtenidos por PCR se realizó una electroforesis tomando una muestra de 2 µl, las bandas se visualizaron utilizando geles de agarosa (Sigma-Aldrich) preparados al 1% con bromuro de etidio (Sigma-Aldrich). Utilizando un marcador de 1 Kb pb (Invitrogen) para estimar el peso molecular. Las imágenes de los

geles fueron expuestas a luz UV y capturadas con la ayuda de un fotodocumentador MiniBis Pro (DNR Bio Imaging System).

### **5.6. Secuenciación y análisis del ADN mitocondrial**

Una vez obtenidos los productos de PCR de tamaño esperado para cada región del genoma fueron enviados a Macrogen, Inc. (Seúl, Corea) según las especificaciones de la compañía para su posterior purificación y secuenciación en ambos sentidos de la cadena. Las secuencias fueron editadas utilizando el programa Chromas Pro (versión 1.41) y alineadas en el programa ClustalW. Se compararon las secuencias obtenidas con las ya publicadas en el GenBank en un análisis BLAST (Altschul *et al.* 1990). Las secuencias que codifican para proteínas fueron transcritas a su expresión polipeptídica utilizando el software en línea Expasy (<http://web.expasy.org/translate/>). Finalmente para obtener la estructura de cada uno de los ARNt se utilizó el programa tRNAscan-SE1.21 disponible en línea (Lower y Eddy, 1997).

### **5.7. Análisis filogenético**

Los análisis sobre filogenia se realizaron a partir del concatenado de los genes que codifican para proteínas de los dos haplotipos obtenidos y se incluyó la información de otros ejemplares para el análisis disponibles en el GenBank, colocando a la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) como grupo externo (Tabla 4). La construcción de los árboles filogenéticos se realizaron en el programa PAUP\* versión 4.0b10 (Swofford, 2002). Las hipótesis filogenéticas se basaron en los criterios de distancias genéticas, máxima parsimonia y máxima probabilidad. Para calcular las distancias genéticas se usó el método de Neighbor Joining (NJ) bajo el criterio de Kimura 2 parámetros con 1000 réplicas aleatorias de bootstrap para encontrar la topología de las relaciones entre los organismos analizados. Para el método de máxima parsimonia se obtuvo el árbol más parsimonioso con la técnica de bisección-reconexión de árboles (TBR) a partir de una búsqueda heurística, donde todos los caracteres fueron igualmente ponderados utilizando 1000 réplicas aleatorias de bootstrap no paramétrico (10 adiciones al azar). Se calcularon los índices de retención y consistencia utilizando PAUP\*

(Swofford, 2002). Para el análisis sobre máxima verosimilitud se determinó que el modelo más óptimo de sustitución de nucleótidos fue el GTR+G+I obtenido mediante las pruebas de tasa jerárquica de verosimilitud (hLRTs) y el criterio de información de Akaike (Posada y Backley, 2004) en la versión modificada ModelTest 3.2 (Posada y Crandall 1998). El modelo se utilizó para calcular los valores a partir de una búsqueda y la topología del árbol a partir de una búsqueda de ML utilizando el intercambio de ramas (branch swapping search) para un árbol de alta verosimilitud en el programa PAUP\* (Swofford, 2002). El árbol fue utilizado como el árbol de inicio para un análisis de bootstrap no paramétrico de 1000 pseudo réplicas para estimar el soporte de nodos en el análisis de ML. Los árboles fueron editados utilizando el programa FigTree versión 1.3.1.

**Tabla 4.** Lista de especies utilizadas para el análisis filogenético.

<b>Especie</b>	<b>Número de acceso</b>	<b>Orden</b>	<b>Familia</b>
<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	HM641815	Siluriformes	Bagridae
<i>Pseudobagrus tokiensis</i>	AB054127	Siluriformes	Bagridae
<i>Leiocassis longirostris</i>	GU596454	Siluriformes	Bagridae
<i>Pelteobagrus nitidus</i>	HM746659	Siluriformes	Bagridae
<i>Pseudobagrus ussuriensis</i>	KC188782	Siluriformes	Bagridae
<i>Pseudobagrus truncatus</i>	JX867259	Siluriformes	Bagridae
<i>Ictalurus punctatus</i>	AF482987	Siluriformes	Ictaluridae
<i>Cranoglanis boudierus</i>	AY898626	Siluriformes	Cranoglanididae
<i>Pangasianodon gigas</i>	AY762971	Siluriformes	Pangasiidae
<i>Pangasius larnaudii</i>	AP012018	Siluriformes	Pangasiidae
<i>Silurus asotus</i>	AP012022	Siluriformes	Siluridae
<i>Silurus meridionalis</i>	JX087350	Siluriformes	Siluridae
<i>Silurus glanis</i>	AM398435	Siluriformes	Siluridae
<i>Auchenoglanis occidentalis</i>	AP012005	Siluriformes	Bagridae
<i>Pareutropius debauwi</i>	AP012017	Siluriformes	Schilbeidae
<i>Synodontis schoutedeni</i>	AP012023	Siluriformes	Mochokidae
<i>Pimelodus pictus</i>	AP012019	Siluriformes	Pimelodidae
<i>Heteropneustes fossilis</i>	AP012013	Siluriformes	Heteropneustidae
<i>Centromochlus perugiae</i>	AP012024	Siluriformes	Auchenipteridae
<i>Liobagrus marginatoides</i>	KC473938	Siluriformes	Amblycipitidae
<i>Liobagrus kingi</i>	KC193779	Siluriformes	Amblycipitidae
<i>Liobagrus obesus</i>	NC_008232	Siluriformes	Amblycipitidae
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NC_008232	Salmoniformes	Salmonidae

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Estructura y organización genómica

Se lograron obtener las secuencias completas de los genomas mitocondriales de dos haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa distribuidos uno en el Río Culiacán y el otro en el Río San Lorenzo. El genoma mitocondrial completo del bagre de Sinaloa presenta una forma circular con un tamaño de 16,503 pares de bases y está conformado por 13 genes que codifican para proteínas, 22 ARNt, 2 unidades ribosomales y una Región Control la cual es la encargada de la replicación y transcripción de la molécula (Tabla 5). Pudimos constatar que el arreglo de los genes y la estructura del genoma del bagre de Sinaloa es idéntico al de la mayoría de los vertebrados. Se realizó un análisis BLAST para identificar y confirmar la veracidad de cada gen (Altschul *et al.* 1990) a partir de la información del genoma mitocondrial del bagre de canal *I. punctatus* (AF482987) siendo su especie más cercana con el genoma mitocondrial completo secuenciado. La mayoría de los genes que codifican para proteínas presentan a ATG como su codón de inicio, sólo *COI* presenta GTG, los genes *ND1*, *COI*, *ATP8*, *ND4L* y *ND5* presentan TAA como codón de terminación, *ND2* y *ND3* presentan TAG, el resto de los genes presentan codones incompletos como *ATP6* que termina en TA, *COII*, *COIII*, *ND4*, *ND6* y *CYTb* que presentan una T al final. Dentro de sus características estructurales podemos decir que los codones son probablemente completados por una poliadenilación post-transcripcional (Ojala *et al.* 1981) y observamos que la existencia de algunos bloques de genes que codifican para proteínas tiene la característica de estar sobrepuestos en ambos sentidos de sus secuencias como ya se logró identificar en otros genomas de bagres (Waldbieser *et al.* 2003; Peng *et al.* 2006; Jondeung *et al.* 2007; Kartavtsev *et al.* 2007).

**Tabla 5.** Organización del ADN mitocondrial de dos haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa, *Ictalurus* sp. H = cadena pesada, L, cadena ligera.

Gen	Abreviación	Posición	Tamaño	Cadena	Codón	
					Inicio	Terminación
Región control	RC	1 - 888	888	-		
ARNt Fenilalanina	F	889 - 958	70	H		
12S ARN ribosomal	12S	959 - 1913	955	H		
ARNt Valina	V	1914 - 1985	72	H		
16S ARN ribosomal	16S	1986 - 3645	1660	H		
ARNt Leucina	L	3646 - 3720	75	H		
NADH Deshidrogenasa 1	ND1	3721 - 4695	975	H	ATG	TAA
ARNt Isoleucina	I	4697 - 4768	72	H		
ARNt Glutamina	Q	4839 - 4768	71	L		
ARNt Metionina	M	4839 - 4909	71	H		
NADH Deshidrogenasa 2	ND2	4908 - 5954	1047	H	ATG	TAG
ARNt Triptófano	W	5953 - 6024	72	H		
ARNt Alanina	A	5995 - 6027	69	L		
ARNt Asparagina	N	6169 - 6097	73	L		
ARNt Cisteína	C	6267 - 6201	67	L		
ARNt Tirosina	Y	6339 - 6270	70	L		
Citocromo Oxidasa I	COXI	6341 - 7891	1551	H	GTG	TAA
ARNt Serina	S	7962 - 7892	71	L		
RNA t. Ác. aspártico	D	7967 - 8039	73	H		
Citocromo Oxidasa 2	COXII	8053 - 8744	691	H	ATG	T-
ARNt Lisina	K	8745 - 8818	74	H		
ATP sintasa 8	ATP8	8819 - 8987	159	H	ATG	TAA
ATP sintasa 6	ATP6	8978 - 9660	684	H	ATG	TA
Citocromo Oxidasa 3	COXIII	9661 - 10444	784	H	ATG	T-
ARNt Glicina	G	10445 - 10516	72	H		
NADH deshidrogenasa 3	ND3	10517 - 10867	351	H	ATG	TAG
ARNt Arginina	R	10866 - 10935	70	H		
NADH deshidrogenasa 4L	ND4L	10936 - 11232	290	H	ATG	TAA
NADH deshidrogenasa 4	ND4	11226 - 12606	1381	H	ATG	T-
ARNt Histidina	H	12607 - 12676	70	H		
ARNt Serina	S	12677 - 12745	64	H		
ARNt Leucina	L	12746 - 12818	73	H		
NADH deshidrogenasa 5	ND5	12819 - 14642	1823	H	ATG	TAA
NADH deshidrogenasa 6	ND6	14639 - 15154	516	L	CTA	T-
ARNt Ác. Glutámico	E	15223 - 12155	69	L		
Citocromo B	CYTB	15225 - 16362	1138	H	ATG	T-
ARNt Treonina	T	16363 - 16434	72	H		
ARNt Prolina	P	16433 - 16503	70	L		



## 6.2. Composición nucleotídica

Se analizó el genoma mitocondrial de los dos haplotipos del bagre de Sinaloa obteniendo valores muy cercanos del contenido de A+T, con un valor promedio de 55.48% lo cual es un porcentaje muy similar al que presenta la especie más cercana *I. punctatus* con un 55.38% y menor tomando en cuenta especies un poco más alejadas como a *C. boudierius* que presenta 56.70 % y *P. gigas* con un 55.92%. Con respecto a regiones específicas, se determinó el porcentaje de A+T que presenta la región control que fue de 64.08%, mientras que las unidades ribosomales *12S* contiene 51.15% y *16S* un 56.22% respectivamente. Los genes codificadores de proteínas presentar un valor de 54.97% de A+T en promedio para los dos genomas analizados, 54.96% corresponde al haplotipo del Río San Lorenzo y 54.98% al haplotipo del Río Culiacán, resultando ser similares al de *I. punctatus* con 55.84% (Waldbieser *et al.* 2003). Los valores que presentan *C. boudierius* de 57.04 % (Peng *et al.* 2006) y *P. gigas* de 55.72% (Jondeung *et al.* 2007) son mayores que los registrados para nuestros bagres nativos (Tabla 6).

**Tabla 6.** Porcentaje de A+T del ADN mitocondrial de los dos haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa, *Ictalurus* sp. Las abreviaciones de los genes fueron tomadas de la tabla 4.

Gen	<i>Ictalurus</i> sp. Río San Lorenzo	<i>Ictalurus</i> sp. Río Culiacán	<i>I. punctatus</i>	<i>C. boudierius</i>	<i>P. gigas</i>
<i>ND1</i>	55.38	55.79	55.69	49.23	55.18
<i>ND2</i>	53.77	53.68	53.68	57.12	53.16
<i>COI</i>	54.48	54.48	53.71	57.58	55.51
<i>COII</i>	55.28	55.57	55.43	58.76	56.73
<i>ATP8</i>	59.52	59.52	60.71	66.07	63.10
<i>ATP6</i>	57.25	56.42	54.33	59.21	59.21
<i>COIII</i>	53.70	53.95	53.72	54.21	53.12
<i>ND3</i>	51.57	51.28	51.85	58.69	54.13
<i>ND4L</i>	53.54	53.20	52.53	51.18	51.18
<i>ND4</i>	56.05	55.91	56.19	58.22	56.05
<i>ND5</i>	57.46	57.46	57.29	58.13	57.20
<i>ND6</i>	51.74	52.26	53.29	55.88	54.34
<i>CYTB</i>	54.83	55.25	54.48	57.29	55.45
Promedio	54.96	54.98	54.84	57.04	55.72

### 6.3. Genes codificadores de proteínas

Los 13 genes codificadores de proteínas para ambos haplotipos presentan un tamaño semejante con respecto al bagre de canal, dentro de su composición los dos presentan codones conservados. Los elementos conservados aparentemente representan una importante evidencia de la monofilia del género al interior de la familia lo cual también se observó en estudios usando también genes mitocondriales por Sullivan *et al.* (2006) y Varela-Romero (2007). Al analizar los dos haplotipos del bagre de Sinaloa observamos que se mantiene casi la misma secuencia de nucleótidos, solo se presentan cambios en la última base que conforma al codón pero que traduce al mismo aminoácido que conforman algunos genes como *ND1*, *ND2*, *COX2*, *COX3*, *ND4*, etc. La secuencia que codifica para el gen *ND5* resultó ser idéntica en los dos haplotipos. Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con los obtenidos por Peng *et al.* (2006) observamos una longitud mayor en los genes *ND5* y *ND6*, así como la presencia del codón de terminación TAG para éste último gen y para *ND1* y *COI*, observando una acumulación de diferencias estructurales con respecto a los representantes de la familia Ictaluridae utilizados en el estudio. *P. gigas* resultó tener mayor variación estructural en los genes codificadores de proteínas con respecto a los ictalúridos y con el representante de la familia más cercana al grupo de interés (Tabla 7).

**Tabla 7.-** Genes que codifican para proteínas del genoma mitocondrial completo de bagre de Sinaloa (*Ictalurus* sp.) basado en el análisis de dos haplotipos geográficos. Los valores representan el tamaño en pares de bases de los genes y los codones de inicio y terminación en negritas representan diferencias de los haplotipos del bagre de Sinaloa e *I. punctatus* con el resto de los Siluriformes analizados. Las abreviaciones de los genes fueron tomadas de la tabla 4.

Gen	<i>Ictalurus</i> sp Río San Lorenzo	<i>Ictalurus</i> sp Río Culiacán	<i>I. punctatus</i>	<i>C. boudierius</i>	<i>P. gigas</i>
<i>ND1</i>	975 ATG/TAA	975 ATG/TAA	975 ATG/TAA	975 ATG/ <b>TAG</b>	975 ATG/TAA
<i>ND2</i>	1047 ATG/TAG	1047 ATG/TAG	1047 ATG/TAG	1047 ATG/TAG	<b>1044</b> ATG/TA
<i>COI</i>	1551 GTG/TAA	1551 GTG/TAA	1551 GTG/TAA	1551 GTG/ <b>TAG</b>	1551 GTG/TAA
<i>COII</i>	691 ATG/T-	691 ATG/T-	691 ATG/T-	691 ATG/T-	691 ATG/T-
<i>ATP8</i>	168 ATG/TAA	168 ATG/TAA	168 ATG/TAA	168 ATG/TAA	168 ATG/TAA
<i>ATP6</i>	684 ATG/TAA	684 ATG/TAA	684 ATG/TAA	684 ATG/ <b>TAA</b>	684 ATG/TA
<i>COIII</i>	784 ATG/T-	784 ATG/T-	784 ATG/T-	784 ATG/T-	<b>785</b> ATG/TA
<i>ND3</i>	351 ATG/TAG	351 ATG/TAG	351 ATG/TAG	351 ATG/TAG	351 ATG/TAG
<i>ND4L</i>	297 ATG/TAA	297 ATG/TAA	297 ATG/TAA	297 ATG/TAA	297 ATG/TAA
<i>ND4</i>	1381 ATG/T-	1381 ATG/T-	1381 ATG/T-	1381 ATG/T-	1381 ATG/T-
<i>ND5</i>	1824 ATG/TAA	1824 ATG/TAA	1824 ATG/TAA	<b>1827</b> ATG/TAA	<b>1827</b> ATG/TAA
<i>ND6</i>	516 ATG/T-	516 ATG/T-	516 ATG/T-	<b>519</b> ATG/ <b>TAG</b>	<b>519</b> ATG/ <b>TAG</b>
<i>CYTb</i>	1138 ATG/T-	1138 ATG/T-	1138 ATG/T-	1138 ATG/T-	1138 ATG/T-

#### 6.4. Unidades ribosomales

Las unidades ribosomales por su naturaleza presentan un arreglo más conservado en sus secuencias comparándolas con genes que mantienen una función diferente a la estructural como aquellos que codifican para proteínas entre todas las especies de vertebrados (Nei, 1987; Li, 1997). Las unidades *12S ARNr* y *16S ARNr* se encuentran dentro de la molécula ancladas entre el ARNt de Fenilalanina y Leucina, separados por el ARNt de Valina (Kogelnik *et al.*, 1998; Nohara *et al.*, 2005). Si bien es cierto que presentan secuencias más conservadas en vertebrados, se ha logrado observar algunas diferencias en cuanto a sustituciones y tamaño en algunos órdenes de peces. (Kim *et al.* 2004, 2005; Nagase *et al.* 2005; Kartavsev *et al.* 2007). Cuando comparamos la longitud de las secuencias de las unidades ribosomales del bagre de Sinaloa vemos algunas diferencias, por ejemplo el tamaño de la unidad *12S* es de 954 pb y con respecto a las de *I. punctatus*, *C. boudierius*, *P. gigas* y *L. obesus* su longitud varía de 1 a 7

pares de bases y su porcentaje de similitud con otras especies es de 98.22% con *I. punctatus*, 91.51% con *P. gigas*, 91.13% con *C. bouderius* y 88.26% con respecto a *L. obesus*. El porcentaje de A+T del bagre de Sinaloa es de 51.15%, siendo este valor muy similar al de otras especies analizadas, 50.79% en *I. punctatus*, 52.87% en *P. gigas*, 52.48% en *C. bouderius* 52.93%. En cambio, la unidad ribosomal 16S del bagre de Sinaloa mostró una longitud de 1661 pb, y muy parecido a la de *I. punctatus*. Comparando con las otras especies, su longitud varía de 6 a 24 pb. El porcentaje de similitud en bagre de Sinaloa con respecto a *I. punctatus*, *P. gigas*, *C. bouderius* y *L. obesus* fue de 97.47%, 92.29%, 89.67% y 89.1%, resultados semejantes a los que obtuvimos con 12S. El porcentaje de A+T de 16S de *Ictalurus* sp. es de 56.22%, y *I. punctatus*, *P. gigas* y *C. bouderius* presentan 55.66%, 55.85% y 55.07%, respectivamente, mientras que *L. obesus* presentó un valor más alto de 56.54% (Tabla 8). Esta variación en la secuencia de las unidades ribosomales es característica importante para emplearlos como marcadores para estudios taxonómicos y filogenéticos.

**Tabla 8.** Comparación de la longitud y porcentaje A+T de las unidades ribosomales 12S y 16S del bagre de Sinaloa (*Ictalurus* sp.) basado en el análisis de dos haplotipos geográficos con el de otras especies.

Especie	12S ARNr		16S ARNr	
	Tamaño (pb)	A+T (%)	Tamaño (pb)	A+T (%)
<i>Ictalurus</i> sp.	954	51.15	1660	56.22
<i>I. punctatus</i>	953	50.79	1660	55.66
<i>P. gigas</i>	959	52.87	1674	55.85
<i>C. bouderius</i>	947	52.48	1636	55.07
<i>L. obesus</i>	956	52.93	1666	56.54

### 6.5. Región control

La región control del bagre de Sinaloa presentó una longitud de 888 pb en los dos genomas de los dos haplotipos estudiados y se encuentra entre los ARNt de Prolina y Fenilalanina. El contenido de A+T para ambos ejemplares de *Ictalurus* sp. de los ríos Culiacán y San Lorenzo fue de 64.20% y 64.08%, respectivamente, dicho contenido fue mucho mayor que el 36.72% que presenta *I. punctatus*. La región control es rica en adenina y timina y se encuentran todos los elementos de control conocidos de la replicación y transcripción

(Wolstenholme, 1992). Esta región se ha logrado caracterizar en vertebrados y se divide en tres dominios, el dominio central y el izquierdo contienen los elementos cis asociados a la terminación de la síntesis de la cadena pesada llamadas (TAS), estos elementos tienen como función regular la transcripción y replicación del genoma mitocondrial. El dominio derecho presenta un bajo porcentaje de G y un alto porcentaje de A. En él se localizan los elementos cis llamados Secuencias de Bloques Conservados (CSBs por sus siglas en inglés) asociados al inicio de la síntesis de la replicación de la cadena pesada y la caja TATA que es el promotor de la síntesis de la replicación de la cadena pesada por la ARN polimerasa II (Walberg *et al.* 1981; Saccone *et al.* 1991; Shadel y Clayton, 1997). El dominio izquierdo presenta secuencias palindrómicas repetidas TACAT, ATGTA, las cuales son las encargadas de proporcionar estabilidad a la horquilla de replicación, que es una estructura secundaria involucrada en la regulación del número de copias del ADNmt en la replicación (Saccone *et al.* 1991; Sbisà *et al.* 1997; Shadel *et al.* 1997). El dominio central es uno de los más conservados en la evolución del ADN mitocondrial en vertebrados pero aun en la actualidad no se ha logrado esclarecer una función determinada (Sbisà *et al.* 1997; Saccone *et al.* 1991).

Dentro de la estructura del genoma mitocondrial de los dos haplotipos analizados se localizaron los elementos reguladores y promotores en las mismas posiciones esto de acuerdo a lo reportado para esta especie en estudios realizados por Vega-Heredia (2007), presenta la misma localización y estructura interior de la región del bagre de canal *I. punctatus* de acuerdo a Waldbieser *et al.* (2003) (Figura 3).

Como en la mayoría de los peces, se logró detectar la secuencia putativa que da origen a la replicación de la cadena ligera (Taanman, 1999; Kim *et al.* 2004a, 2004b; Nagase *et al.* 2005; Kartavtsev *et al.* 2007) en los dos haplotipos geográficos de bagre de Sinaloa. La secuencia se observó localizada en una región no codificante del grupo de ARN de transferencia conocida como WANCY por la nomenclatura de una letra de los aminoácidos Triptófano, Alanina, Asparagina, Cisteína y Treonina y flanqueada por los genes de *ND2* y *COI*. La secuencia para el origen de la cadena ligera en el haplotipo del bagre de Sinaloa del Río San Lorenzo se detectó utilizando los orígenes reportados por Kartavtsev *et al.* (2007), Peng *et al.* (2006) y Jondeung *et al.* (2006) para otros Siluriformes cercanos a la familia

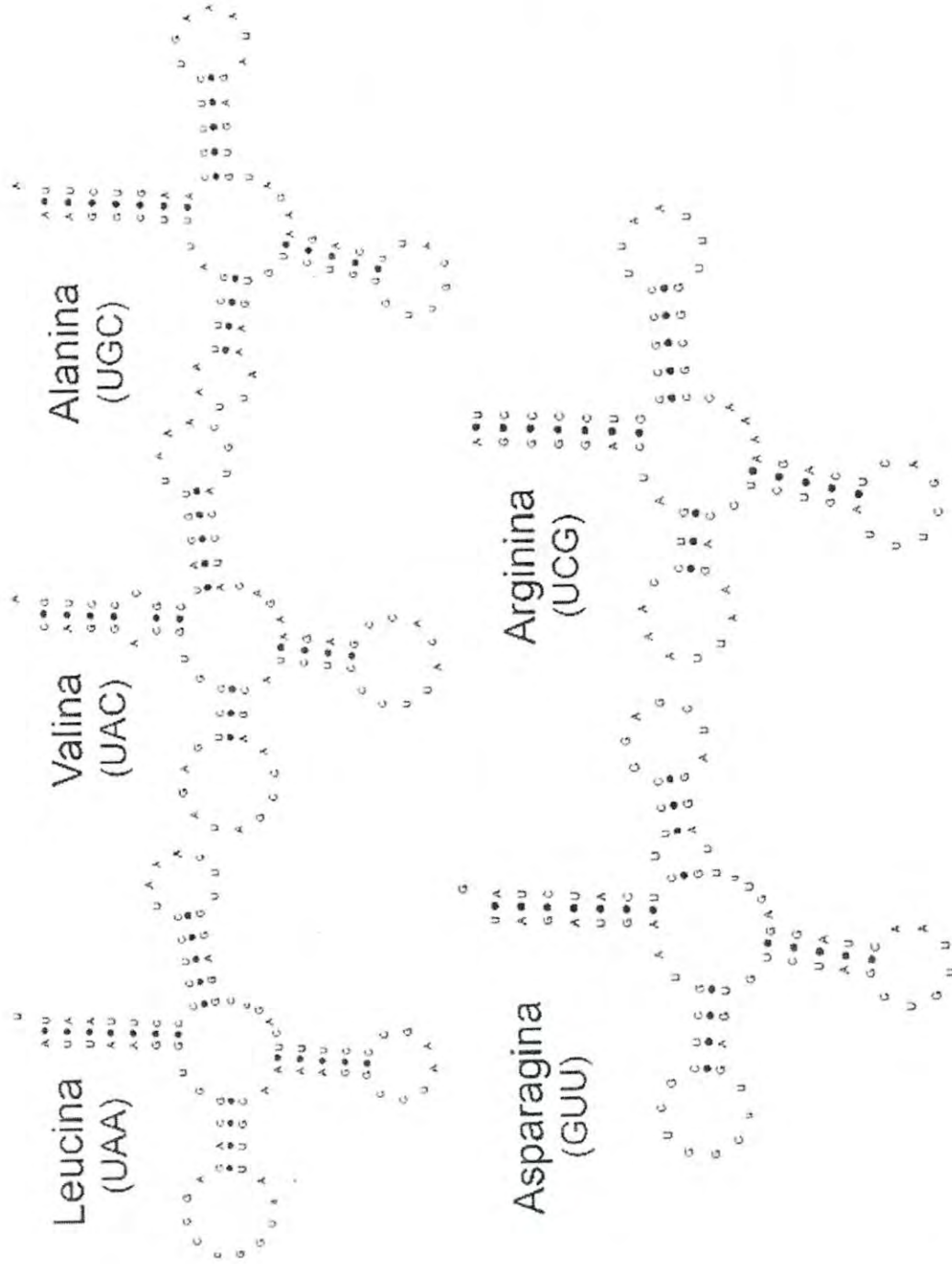
Ictaluridae, resultando en una secuencia de 29 pb (5'-CTTTCCCGCCTCCCGCCAAAAAGGCGGG-3') muy conservada flanqueada por los ARNt de Asparagina y Cisteina. La secuencia del inicio de la replicación que se logró identificar resultó igual en los dos haplotipos del bagre de Sinaloa, pero su secuencia difiere con respecto a la del bagre de canal *I. punctatus* solamente en una base que se encuentra en la posición 19 donde el bagre de Sinaloa presenta una Adenina y el bagre de canal una Citosina, resultando en una transversión. Aunque esta secuencia por su función tenga la naturaleza de ser muy conservada, nos permite distinguir a nuestras especies nativas de su bagre hermano.



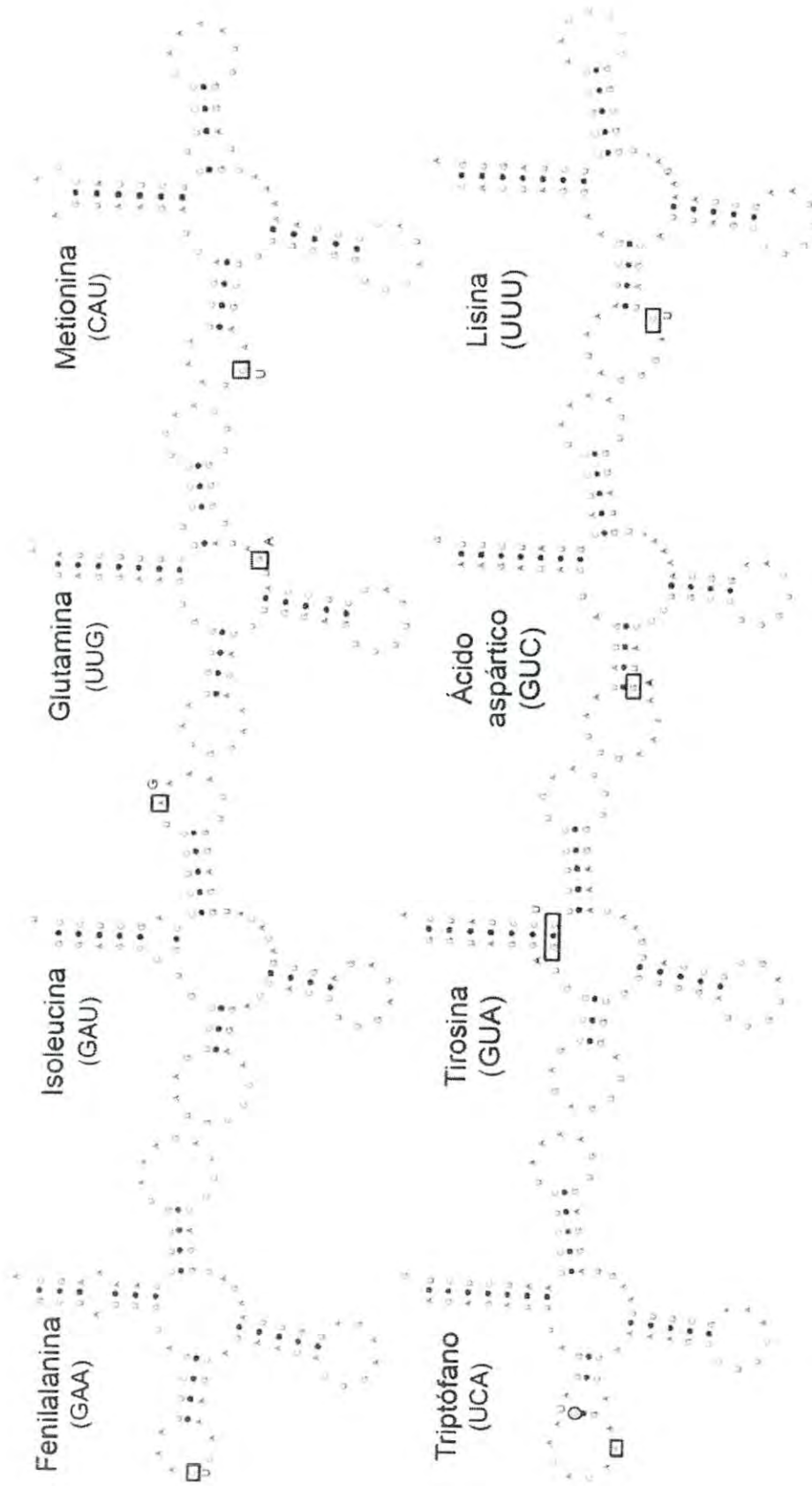
## 6.6. ARN's de transferencia

El genoma mitocondrial del bagre de Sinaloa tiene en su estructura 22 ARN de transferencia con un tamaño que varía desde 64 a 75 pb (Tabla 4). Durante el estudio no nos fue posible obtener la estructura secundaria del ARNt de Serina ya que carece del brazo "DHU" situación que se ha observado en otras especies de peces (Shi *et al.* 2011; Yun *et al.* 2012). La estructura secundaria del ARNt de Serina tiene como característica la presencia de un bucle sin un tallo o en ocasiones un tallo sin un bucle. Probablemente por esta razón, el brazo DHU se creía perdido en muchos peces (Lee y Kocher, 1995; Miya y Nishida, 1999). El análisis se llevó a cabo comparando las estructuras secundarias de cada uno de los ARNt resultando muy idéntica a la de *I. punctatus* y solo mostrando diferencias en la composición de bases en 15 secuencias, sin embargo las estructuras de cada especie mostró los mismos anticodones (Figura 5). El ARNt de Serina del bagre de Sinaloa mostró una secuencia diferente comparado con su especie más cercana *I. punctatus*. Los cinco ARNt restantes que fueron detectados en el análisis mostraron una composición de bases conservada entre las estructuras secundarias de los ARNt de *I. punctatus* (Figura 4). La comparación de los ARNt de los genomas mitocondriales del bagre de Sinaloa del Río San Lorenzo y del Río Culiacán obtenidos mostró diferencias en los ARNt de Cisteína, Treonina y Serina sugiriendo diferencias intraespecíficas que nos permite separar genéticamente a estas dos especies aun a pesar del alto nivel de conservación que presentan estas unidades (Figura 5).



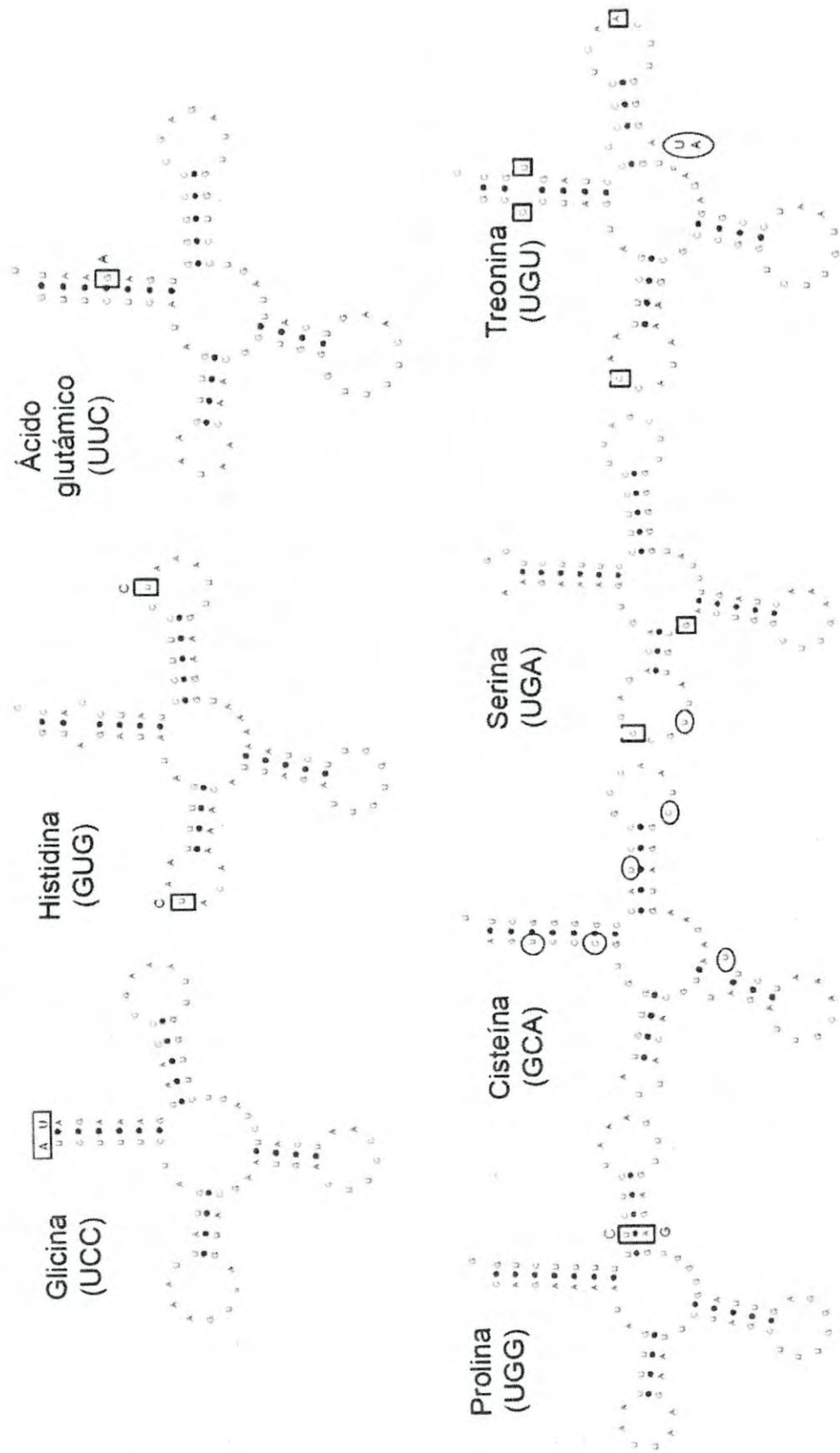


**Figura 4.** Estructuras secundarias que se mantienen conservadas entre los dos haplotipos de bagre de Sinaloa con *L. punctatus*.



**Figura 5.** Estructura secundaria de los ARNt del bague de Sinaloa comparada con *I. punctatus*. Los círculos representan la diferencia del haplotipo 1 del Río San Lorenzo con el Haplotipo 2 del Río Culiacán y los cuadrados representan las diferencias en composición de bases con *I. punctatus*.

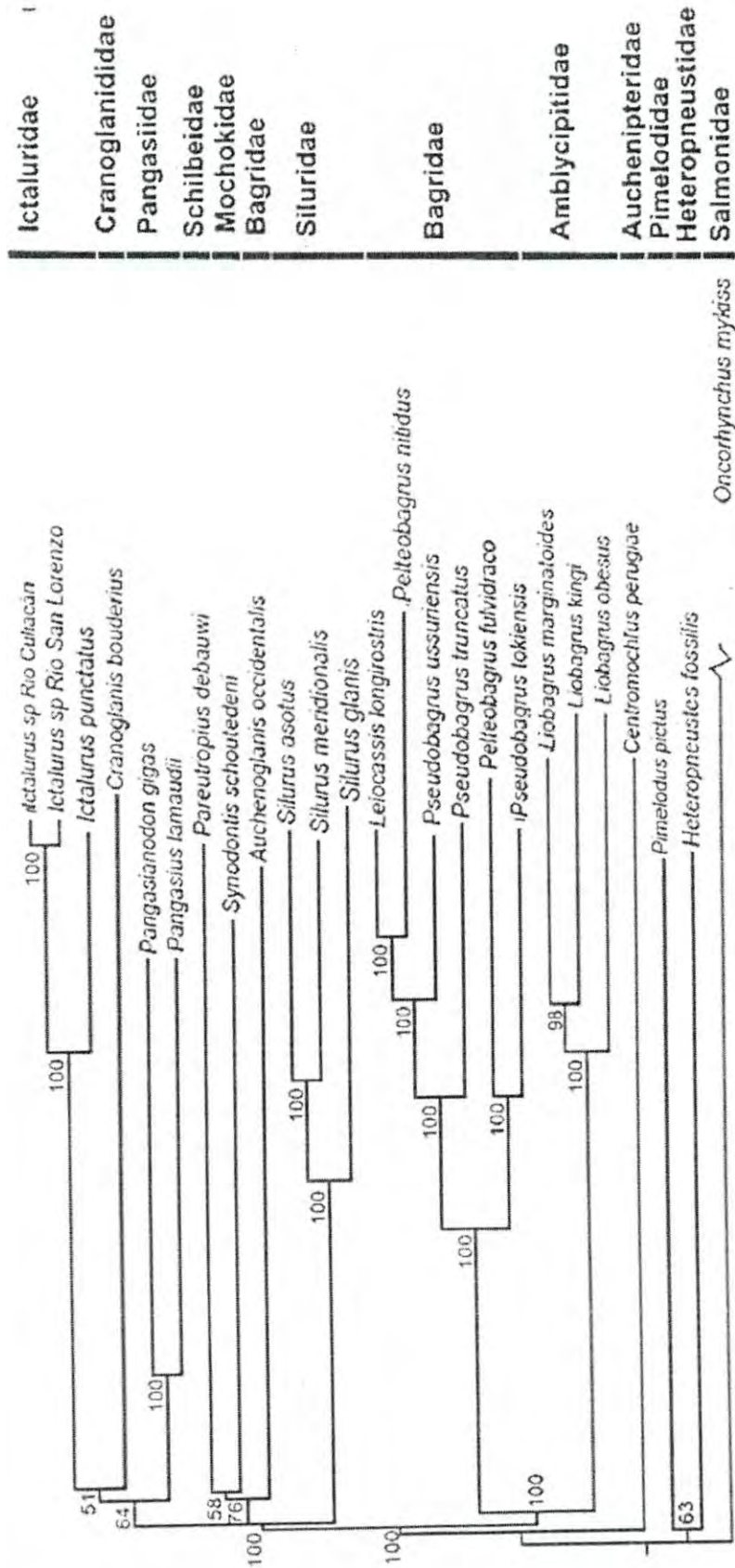
Figura 5. Continuación.



## 6.7. Análisis filogenético

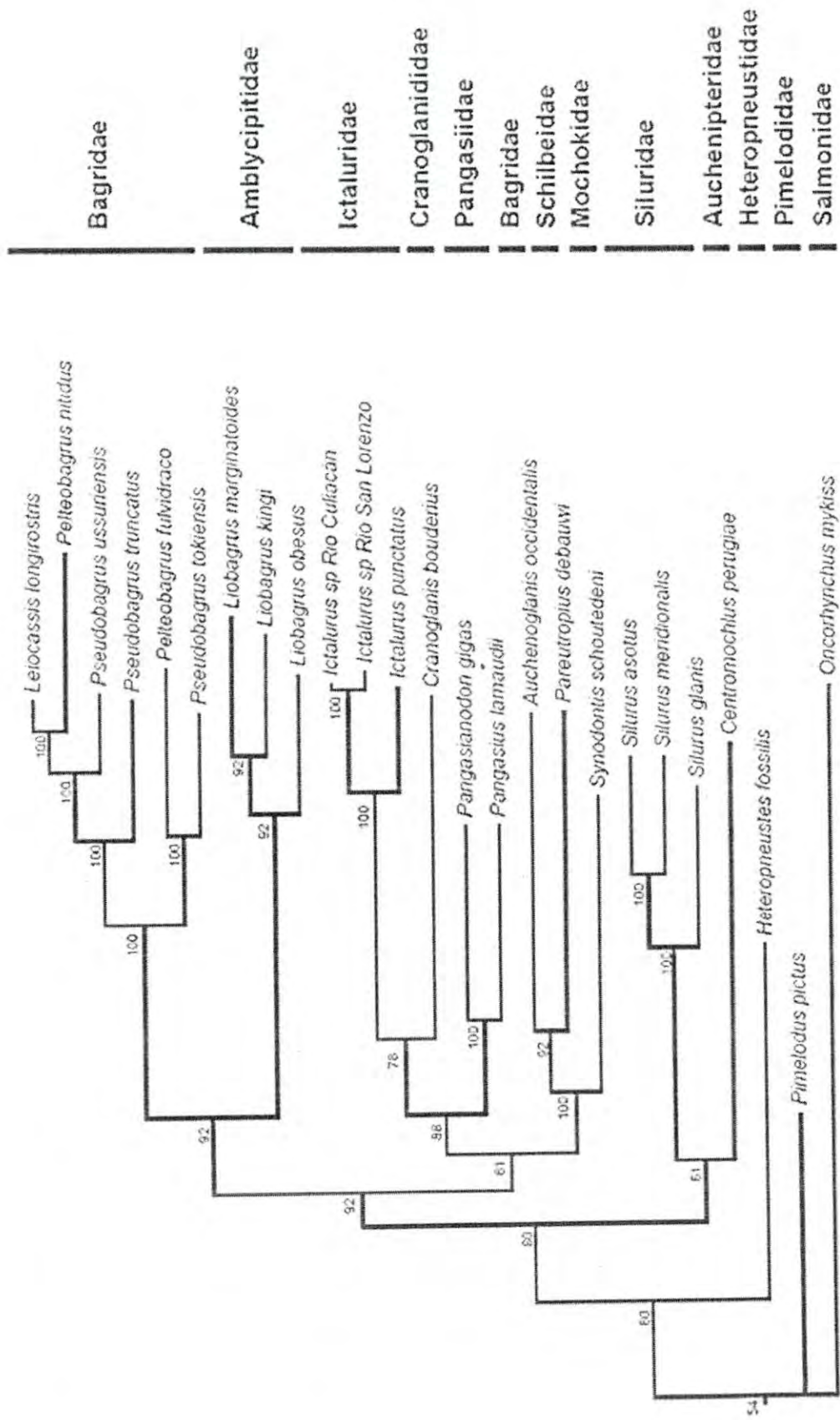
Los resultados del estudio de las relaciones filogenéticas donde se utilizaron las secuencias de once familias de bagres, incluyendo Ictaluridae, se obtuvieron a partir de un concatenado de las secuencias nucleotídicas que codifican para proteínas de los genomas mitocondriales completos agregando a un miembro del Orden Salmoniformes como grupo externo para el análisis (Tabla 3). Cuatro mil seiscientos ochenta y uno de 11,593 bases de las secuencias nucleotídicas alineadas fueron parsimoniosamente informativas. La construcción de las hipótesis filogenéticas realizadas aportaron arboles con topologías y soportes de nodos muy similares entre sí utilizando los criterios tanto de Neighbor Joining con Kimura 2 parámetros, máxima parsimonia y máxima verosimilitud (Figuras 6, 7 y 8). Sólo el árbol de NJ nos compromete la topología de las hipótesis de los otros dos criterios al mostrar a los miembros de las familia Siluridae en politomia con el clado del grupo interno del análisis (Ictaluridae) y sus familias hermanas (Cranoglanididae y Pangasidae, Figuras 6, 7 y 8). De la misma forma, las familias de Siluriformes menos relacionadas con el grupo de interés mostraron incongruencias en el acomodo en clados definidos originado principalmente por el bajo número de secuencias incluidas en el análisis debido a que se eligieron sólo como representantes del orden Siluriformes.

Los árboles construidos bajo los criterios de NJ, MP (Longitud = 24,329 pasos, c.i. = 0.379, r.i. = 0.449) y ML (Longitud = 125,293.30, modelo de evolución GTR+G+I) utilizando mil remuestreos de bootstrap para los tres criterios, mostraron a los haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa agrupados en un solo clado proporcionándole identidad específica y muy unidos a *Ictalurus* representante del clado *punctatus* (Lundberg, 1992; Sullivan *et al.* 2006; Varela-Romero, 2007). El análisis de bootstrap en cada criterio se mostró de manera consistente a la monofilia presente en la familia Ictaluridae con un valor de 100% al igual que reportado por Sullivan *et al.* (2006), colocando a todos los *Ictalurus* dentro de un mismo clado, lo que apoya la identidad específica del bagre de Sinaloa (Figuras 6, 7 y 8).



**Figura 6.-** Árbol de Neighbor Joining de distancias genéticas bajo el criterio de Kimura 2 parámetros de especies de la familia Ictaluridae y de familias selectas de Siluriformes, incluyendo a *Oncorhynchus mykiss* como grupo externo. Los números en los nodos indican los valores de bootstrap obtenidos.





**Figura 8.-** Árbol filogenético bajo el criterio de máxima verosimilitud (ML) para 25 genomas mitocondriales completos de especies de la familia Ictaluridae y de familias selectas de Siluriformes, incluyendo a *Oncorhynchus mykiss* como grupo externo. Los números en los nodos representan el valor de bootstrap obtenidos.

En los árboles podemos observar una relación del grupo de interés con el clado *Cranoglanis boudierius*, resultados diferentes obtenidos por Wang *et al.* (2011) donde la familia Pangasidae resulto ser más cercana y difiere también de los encontrado por Peng *et al.* (2006) donde *P. gigas* y *C. boudierius* agrupan a *I. punctatus* como representante de la familia Ictaluridae.

Otros estudios que se han realizado con algunos genes como *CYTB*, región control y *ND2* y caracteres morfológicos mostraron a los cranoglanidos como la familia hermana de Ictaluridae (Hardman, 2005; Peng *et al.* 2005; Sullivan *et al.* 2006; Varela-Romero, 2007; Vega-Heredia 2007). Los resultados de este estudio muestran a *C. boudierius* agrupado con la familia Ictaluridae y ambos muy cercanos a su grupo hermano a la familia Pangasiidae. Estos últimos clados mostraron cercanía con los clados conformados por las familias Mochokidae (*Synodontis schoutedeni*), Bagridae (*Auchenoglanis occidentalis*) y Schilbeidae (*Pareutropius debauwi*) respectivamente (Figuras 6, 7 y 8).

Los bagres de las familia Amblycipitidae (*Liobagrus marginatoides*, *L. kingi* y *L. obesus*) y Bagridae (*Pelteobagrus fulvidraco* y *Pseudobagrus tokiensis*) forman un solo clado con altos valores de bootstrap (100%) unidos con el clado de los ictalúridos y su familia hermana (Figuras 6, 7 y 8). La topología para los tres criterios de análisis fue la misma y el bootstrap sólo varió de un 91 a 98% en el nodo del clado que forman las especies *Liobagrus marginatoides* y *L. kingi* al interior de la familia Amblycipitidae. Estas familias han sido reportadas cercanas a los clados definidos en los trabajos de Peng *et al.* (2006) y Wang *et al.* (2011). Al interior de la familia Bagridae, las especies de los géneros *Pseudobagrus* y *Pelteobagrus* se muestran anidando en clados distintos a la vez en los tres análisis de este estudio, lo que aparenta un origen polifilético en alguna de estas dos especies de la familia (Figuras 6, 7 y 8). Kartavtsev *et al.* (2007) en su estudio del genoma mitocondrial completo del bagre toro (*Liobagrus obesus*) encontró que *Pseudobagrus truncatus* está más relacionado con *Leiocassis longirostris* que con otras especies de *Pseudobagrus* utilizadas en su análisis, por lo que concluye que al menos éste género es polifilético y que la sistemática y filogenia de la familia Bagridae no se encuentra debidamente resuelta.



La filogenia molecular de los dos haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa, es la única propuesta de trabajo que existe sobre estudios para determinar la identidad específica, biogeográfica, especiación y evolución del clado *punctatus*, como también de las relaciones filogenéticas con otros *Ictalurus* hermanos de la vertiente Pacífico de la Sierra Madre Occidental y la familia Ictaluridae en Norteamérica. La falta de estudios sobre genomas mitocondriales completos de otros representantes de las especies del género *Ictalurus*, es una clara limitante para aplicar esta herramienta de análisis por la falta de información existente, es necesario enfocar esfuerzos e investigaciones para estas especies ya que nuestro México es el centro de especiación del género (Miller *et al.* 2005), se abre la oportunidad de desarrollar nuevos estudios sobre todo en las especies aún sin identificar pertenecientes a este género que se encuentran dentro del complejo de bagres nativos de donde proviene el bagre de Sinaloa.

Definitivamente es necesario desarrollar más estudios sobre genomas mitocondriales completos de otras especies de la familia con el objetivo de complementar el conocimiento sobre sus relaciones filogenéticas, el origen y la biogeografía de las especies en el Noroeste de México.

## VII. CONCLUSIONES

La estructura completa del genoma mitocondrial de los dos haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa (*Ictalurus* sp.) de los ríos Culiacán y San Lorenzo, presentan una longitud de 16,503 pares de bases con porcentajes nucleotídicos de A + T muy parecidos con valores de 54.96% y 54.98%, resultando distintos del resto de los Siluriformes, incluyendo la longitud del genoma mitocondrial completo del bagre de canal.

Los dos genomas secuenciados del bagre de Sinaloa exhibieron presentaron el mismo arreglo de sus genes como ocurre en la mayoría de los vertebrados y en los Siluriformes, y consta de una región control, 13 genes que codifican para proteínas, 2 unidades ribosomales y 22 ARNt con una misma longitud.

Los genes codificadores de proteínas en ambos genomas estudiados presentaron los mismos codones de inicio y terminación compartiéndolos con su especie más cercana *Ictalurus punctatus*, sugiriendo secuencias conservadas dentro del mismo género, pero distinto con respecto a la mayoría de los genes codificadores de los demás Siluriformes.

Las unidades ribosomales *12S* y *16S* mostraron la misma longitud entre los dos haplotipos de los bagres de Sinaloa analizados y fueron muy similares comparadas con *I. punctatus*, pero más variables en comparación con los Siluriformes.

Se logró determinar la estructura secundaria de los ARNt's de ambos genomas, la secuencia nucleotídica y la estructura secundaria de estas moléculas resultaron ser distintas para los ARNt de cisteína, treonina y serina entre los dos haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa. Cinco de los ARNt resultaron idénticos a los de *I. punctatus* y el resto fueron diferentes, mostrando identidad específica para nuestra especie.

La región control presenta un tamaño 888 pb dividida en tres dominios para los dos haplotipos geográficos analizados del bagre de Sinaloa. El dominio derecho con los bloques de

secuencias conservadas (CBS) y la caja TATA, en los dominios izquierdo y central se encuentran las secuencias palindrómicas TAS y el dominio central mostró ser muy conservado entre las especies del género. Se detectó la secuencia putativa que da origen a la replicación de la cadena ligera del genoma mitocondrial.

Los topologías de los análisis filogenéticos y los soportes de nodos obtenidos para el árbol en cada uno de los criterios evaluados fueron muy similares para nuestro grupo de interés observando una monofilia para los haplotipos geográficos del bagre de Sinaloa, para el género *Ictalurus* y para la familia Ictaluridae; colocando este clado con el bagre asiático *Cranoglanis boudierius* de la familia Cranoglanididae reportado en estudios anteriores y además se detectó la cercanía de la familia Pangasidae con el clado Ictaluridae + Cranoglanididae.

Los resultados obtenidos de la secuenciación y estructura de los dos ejemplares de bagres de las cuencas de los Ríos Culiacán y San Lorenzo sugieren que bagre de Sinaloa se puede considerar como una nueva especie que requiere su descripción formal.

Finalmente el estudio muestra la falta de información sobre estas especies y la necesidad de incrementar el conocimiento necesario para salvaguardar la biodiversidad de este grupo especies nativas como el bagre de Sinaloa, sobre todo por el valor que representan para nuestro país.

## VIII. RECOMENDACIONES

Utilizar los resultados de este estudio para comparar con la genómica mitocondrial del bagre Yaqui para establecer la identidad específica de las poblaciones del bagre de Sinaloa, para así proponer a esta herramienta como un criterio importante para la caracterización de la identidad específica de las especies de bagres nativos de México.

Desarrollar más estudios que nos ayuden a conocer la fauna de peces del Noroeste de México, en especial del género *Ictalurus*, por la importancia que representan en nuestro país. Esto contribuirá a mejorar el conocimiento sobre la conservación de la biodiversidad, sobretodo enfatizar estudios con las especies que forman parte del complejo de bagres nativas de donde proviene nuestra especie.

Conocer la identidad específica de los bagres nativos al igual que su variabilidad y estructura genética utilizando marcadores moleculares como herramientas para identificar a especies de acuerdo a su distribución geográfica.

Caracterizar métrica y morfométricamente las poblaciones del bagre de Sinaloa y realizar su comparación con otras especies de bagres nativos del clado *punctatus*

Plantear estrategias para la recuperación de especies nativas como el bagre de Sinaloa que se encuentra en peligro, que pudieran generar un mercado potencial y así generar ganancias en nuestro país.

Reducir el uso de bagres no nativos en la acuicultura extensiva y la pesca comercial en presas en el Noroeste de México e implementar el uso de especies nativas como el bagre de Sinaloa, como una estrategia en la recuperación de especies en peligro de extinción.

Conservar la diversidad genética natural de especies de bagres nativos del Noroeste de México, por su potencial valor comercial a largo plazo para la industria global que puede competir contra especies como el bagre de canal.

## LITERATURA CITADA

- Altschul, F., G. Gish, W. Miller, E.W. Myers y D.J. Lipma. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403-410.
- Britto, M.R. 2003. Phylogeny of the subfamily Corydoradinae Hoedeman, 1952 (Siluriformes: Callichthyidae), with a definition of its genera. *Proceedings of the Academy of National Sciences of Philadelphia*, 153: 119-154.
- Boore, J.L. 1999. Survey and Summary Animal Mitochondrial Genomes. *Nucleic Acids Research*, 27(8): 1767-1780.
- Boore, J.L., J.R. Macey y M. Medina. 2005. The genomes: Sequencing and comparing whole mitochondrial genomes of animals. *Methods in Enzymology*, 395: 311-348.
- Burgess, W.E. 1989. *An Atlas of Freshwater and Marine Catfishes. A Preliminary Survey of the Siluriformes*. T.F.H. Publications. New Jersey. USA. 784 p.
- Contreras, B.S. y C.M. Escalante. 1984. Distribution and known impacts of exotics fishes in Mexico. P. 102-130. En: W. R. Courtenay Jr. y J. R. Stauffer Jr. (eds.), *Distribution, Biology and management of exotic fishes*. The John Hopkins University Press. Baltimore, Maryland.
- Dobzhansky, T., F. Ayala, V. Stebbins y J. W. Valentine. 1977. *Evolution*. W.H. Freeman. Francisco, California. USA. 572 p.
- Fukami, H., C.A. Chen, C.Y. Chiou y N. Knowlton. 2007. Novel group I introns encoding a putative homing endonuclease in the mitochondrial *cox1* gene of scleractinian corals. *Journal of Molecular Evolution*, 64: 591-600.
- Futuyma, D.J. 1998. *Evolutionary Biology*. Tercera Edición. Sinauer Associates, Sunderland. USA. 763 p.
- Garesse, R., y C.G. Vallejo. 2001. Animal mitochondrial biogenesis and function: a regulatory cross-talk between two genomes. *Gene*, 263: 1-16.
- Gaston, K.J. 2000. Global patterns in biodiversity. *Nature*, 405: 220-227.
- Hardman, M. 2002. *The phylogenetic relationships among extant catfishes, with special reference to Ictaluridae (Otophysi: Siluriformes)*. Ph. Dissertation. University of Illinois at Urbana-Champaign. Illinois. USA. 206 p.

T. 160199

- Hardman, M. 2005. The phylogenetic relationships among non-diplomystid catfishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequences; the search for the ictalurid sister taxon (Otophysi: Siluriformes). *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 37: 700-720.
- Hardman, M. y L.M. Page. 2003. Phylogenetic relationships among bullhead catfish on the genus *Ameiurus* (Siluriformes: Ictaluridae). *Copeia*, 1: 20-33.
- Hendrickson, D.A., W.L. Minckley, R.R. Miller, D.J. Siebert y P.H. Minckley. 1981. Fishes of the Rio Yaqui basin, México and United States. *Journal of the Arizona Nevada Academy of Sciences*, 15: 65-106.
- Hendrickson, D.A. 1984. Distribution records of native and exotic fishes in the Pacific drainages of northern México. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Sciences*, 18: 33-38.
- Hoelzel, A.R., J.M. Hancock y G.A. Dover 1991. Evolution on the cetacean mitochondrial D-loop region. *Molecular Biology and Evolution*, 8: 475-493.
- Jolly, C.C., J. Ligeon, Z. Crews y R. Dunham. 2001. Present and future trends in the U.S. catfish industry: strategies and concerns for millennium years. *Reviews in Fishery Science*, 9: 271-295.
- Jondeung, A., P. Sangthong y R. Zardoya. 2007. The complete mitochondrial DNA sequence of the Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*), and the phylogenetic relationships among Siluriformes. *Gene*, 387: 49-57.
- Juárez-Romero, L., A. Varela-Romero y J. Campoy-Favela. 1989. The Río Sonoyta Basin and its ichthyofauna in the Pinacate Reserve: Study and Conservation. En: *Comité de Ecología y Medio Ambiente, Comisión Sonora Arizona (ed.), Memorias del Simposio de Investigación sobre la zona ecológica de El Pinacate, Hermosillo, Sonora, México. Octubre de 1987. p. 21-24.*
- Kartavtsev, Y.P., S.O. Jung y Y.M. Lee. 2007. Complete mitochondrial genome of the bullhead torrent catfish, *Liobagrus obesus* (Siluriformes, Amblycipididae): genome description and phylogenetic considerations inferred from the *cyt b* and *16S* rRNA genes. *Gene*, 396: 13-27.
- Kim, I.C. y J.S. Lee. 2004. The complete mitochondrial genome of the rockfish, *Sebastes schlegeli* (Scorpaeniformes, Scorpaenidae). *Molecular Cells*, 17:322-328.
- Kogelnik, A.M., M.T. Lott, M.D. Brown, S.B. Navathe y D.C. Wallace. 1998. MITOMAP: a human mitochondrial genome database update. *Nucleic Acids Research*, 26 (1): 112-115.

- Lee, W. y T.D. Kocher. 1995. Complete sequence of a sea lamprey (*Petromyzon marinus*) mitochondrial genome: early establishment of the vertebrate genome organization. *Genetics*, 139: 873-887.
- Li, W.H., 1997. Complete mitochondrial DNA sequence of the Atlantic blue fin tuna *Thunnus thynnus*. *Fish Science*, 70: 68-73.
- Light, T., y M.P. Marchetti. 2007. Distinguishing between invasions and habitat changes as drivers of diversity loss among California's freshwater fishes. *Conservation Biology*, 21(2): 434-446.
- Lowe, T.M., y S.R. Eddy. 1997. tRNAscan-SE: A program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. *Nucleic Acids Research*, 25: 955-964.
- Lundberg, J.G. 1970. The evolutionary history of North American catfishes, family Ictaluridae. Ph. Dissertation. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan.
- Lundberg, J.G. 1992. The phylogeny of ictalurid catfishes: a synthesis of recent work. p. 392-420. En: Mayden, R.L. (ed.), *Systematics, Historical Ecology and North American Freshwater Fishes*. Stanford University Press. Stanford. California.
- Lundberg, J.G. 2003. Global quest for catfish. *Diversitas*, 5: 5.
- Mayden, R.L., B.M. Burr, L.M. Page y R.R. Miller. 1992. The native freshwater fishes of North America. p. 827-863. En: Mayden R.L. (ed.), *Systematics, Historical Ecology and North American Freshwater Fishes*. Stanford University Press. Stanford, California.
- Meffe, G.K. y R.C. Vrijenhoek. 1988. Conservation genetics in the management of desert fishes. *Conservation Biology*, 2: 157-169
- Miller, R.R. y R. Schultz. 1959. All-female strains of the teleost fishes of the genus *Poeciliopsis*. *Science*, 130: 1656-1657.
- Miller, R.R. 1976. An evaluation of Seth E. Meek's contributions to Mexican ichthyology. *Fieldiana Zoology*, 69: 1-31
- Miller, R.R. 1978. Composition and derivation of the native fish fauna of the Chihuahuan Desert region United States and Mexico. p. 365-382. En: Wauer R.H. and D.H. Riskind (eds.), *United States Department of the Interior, National Park Service Series, Transaction Proceedings Series 3*.
- Miller, R.R., W.L. Minckley y S. Norris. 2005. *Freshwater fishes of Mexico*. University of Chicago Press. Chicago. Illinois. 490 p.



- Milinkovitch, C., G. Ortí y A. Meyer. 1993. Revised phylogeny of whales suggested by mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Nature*, 361: 346-348.
- Minckley, W.L. 1965. Native fishes as natural resources. p. 48-60. En: J.L. Gardner (ed.). Native plants and animals as resources in arid lands of Southwestern United States. Contribution 8, Comm. Desert Arid Zones Res., American Association of Advances in Science.
- Minckley, W.L. 1973. Fishes of Arizona. Arizona Game and Fish Department. Phoenix, Arizona, USA. 293 p.
- Minckley, W.L. y C.R. Gilbert. 1980. *Ictalurus pricei* (Rutter), Yaqui catfish. p. 445. En: Lee D.S., C.R. Gilbert, C.H. Hocutt, R.E. Jenkins, D.E. McCallister y J.R. Stauffer, Jr. (eds.), Atlas of North American Freshwater Fishes. North Carolina State Museum of Natural History, Raleigh, N.C.
- Minckley, W.L., D.A. Hendrickson y C.E. Bond. 1986. Geography of western North American freshwater fishes; description and relations to intracontinental tectonism. p. 519-614. En: Hocutt C.H. y E.O. Wiley (eds.), Zoogeography of Freshwater Fishes of North America. Wiley Interscience, New York, N.Y.
- Miya, M. y M. Nishida. 1999. Organization of the mitochondrial genome of a deep-sea fish, *Gonostoma gracile* (Teleostei: Stomiiformes): first example of transfer RNA gene rearrangements in bony fishes. *Marine Biotechnology*, 1: 416- 426.
- Mo, T. 1991 Anatomy, relationships and systematics of the Bagridae (Teleostei: Siluroidei) with a hypothesis of siluroid phylogeny. Theses Zoologicae 17. Koeltz Scientific Books. Koenigstein. 216 p.
- Molina-Fraener, F., T.A. Markow, E.J. Pfeiler, O. Rojas-Soto, A. Varela-Romero, A. Quijada-Mascareñas, J.D. Nason, M. Esqueda-Valle y G. Yepiz-Plascencia. 2009. Diversidad genética de la biota de Sonora. p 97-128. En: Molina-Fraener, F. y T. Van Devender (eds.), Biodiversidad de Sonora. UNAM, México.
- Moyle, B.B., H.W. Li y B.A. Barton. 1986. The Frankenstein effect: Impact of introduced fishes on native fishes in North America. p. 415-426. En: Stroud R.H. (ed.), Fish culture in fisheries management. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland.
- Nagase, M., T. Aimi, K. Suginaka, Y. Kitamoto y T. Morinaga. 2005. Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese flying fish *Cypselurus hiraii*. *Fishery Science*, 71: 914-923.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, N.Y. 512 p.
- Nelson, J. S. 2006. Fishes of the World. Cuarta edición. John Wiley & Sons. New York. 622 p.

- Nohara, M., M. Nishida, M. Miya y T. Nishikawa. 2005. Evolution of the mitochondrial genome in cephalochordata as inferred from complete nucleotide sequences from two epigonichthys species. *Journal of Molecular Evolution*, 60: 526–537.
- Ojala, D., J. Montoya y G. Attardi. 1981. tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature*, 290: 470–474.
- Page, L. M. , H. Espinosa-Pérez, L. D. Findley, C. R. Gilbert, R. N. Lea, N. E. Mandrak, R. L. Mayden and J. S. Nelson. 2013. Common and scientific names of fishes from the United States, Canada, and Mexico. Seventh edition. American Fisheries Society, Special Publication 34. USA. 384 p.
- Palumbi, S.R. y J.A.H. Benzie. 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. *Molecular Marine Biotechnology*, 1: 27–34.
- Rand, D.M. 2001. The units of selection on mitochondrial DNA. *Ecology and Systematics*, 32: 415- 448.
- Peng, Z., Y. Zhang, S. He y Y. Chen. 2006. Phylogeny of Chinese catfishes inferred from mitochondrial cytochrome b sequence. *Acta Genet Sin*, 32: 145-154.
- Posada, D. y K.A. Crandall. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution *Bioinformatics*, 1: 817-818.
- Posada. D. y T.R. Buckley. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, 53: 793–808.
- Rand, D.M. 2001. The Units of Selection on Mitochondrial DNA. *Ecology and Systematics*, 32: 415- 448.
- Rodiles-Hernández, R., D.A. Hendrickson, J.G. Lundberg y J.M. Humphries. 2005. *Lacantunia enigmatica* (Teleostei: Siluriformes) a new and phylogenetically puzzling freshwater fish from Mesoamerica. *Zootaxa*, 1000: 1-24.
- Rutter, C.M. 1896. Notes on fresh water fishes of the Pacific slope of North America. II. The fishes of Rio Yaqui, Sonora, with the description of a new genus of Siluridae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 6: 255-262.
- Saccone, C., M. Attimonelli y E. Sbisa. 1987. Structural elements highly preserved during the evolution of the D-loop containing region vertebrate mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 26: 205-211.

- Sbisa, E., F. Tanzariello, A. Reyes, G. Pesole y C. Saccone. 1997. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*, 205: 125-140.
- Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics*, 5: 63-69.
- SEMARNAT. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación (Segunda Sección)*: 1-78.
- Shadel, G.S. y D.A. Clayton. 1993. Mitochondrial Transcription initiation. *Biological Chemistry*, 268: 16083-16086.
- Shadel, G.S. y D.A. Clayton. 1997. Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. *Annual Review of Biochemistry*, 66: 409-435.
- Shi, W., X.Y. Kong, Z.M. Wang y J.X. Jiang. 2011. Utility of tRNA genes from the complete mitochondrial genome of *Psetta maxima* for implying a possible sister-group relationship to the Pleuronectiformes. *Zoological Studies*, 50(5): 665-681.
- Smith, M.L. y R.R. Miller. 1986. The evolution of the Rio Grande basin as inferred from the fish fauna. p. 459-485. En: C. H. Hocutt y E. O. Wiley (eds.), *The Zoogeography of North American Freshwater Fishes*. John Wiley & Sons, Inc., New York, N. Y.
- Stepien, C. y T.D. Kocher. 1997. Molecules and Morphology in the studies of fish evolution. p. 314. En: Kocher T.D. y C.A. Stepien (eds.), *Molecular Systematics of Fishes*. Academic Press. San Diego. California. USA.
- Sullivan, J.P., J.G. Lundberg y M. Hardman. 2006. A phylogenetic analysis of the mayor groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using *rag1* and *rag2* nuclear sequences genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41: 636-662.
- Swoford, D.L. 2002. PAUP\* 4.0: Phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Sunderland, MA, Sinauer Associates.
- Taanman, J.M. 1999. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1410: 103-123.
- Tanaka, M. y T. Ozawa. 1994. Strand asymmetry in human mitochondrial mutations. *Genomics*, 22: 327-335.
- Taylor, J.N., W.R. Courtney y J.A. McCann. 1984. Known impacts of exotic fish introductions in the continental United States. p 322-373. En: W.R. Courtenay Jr. y

- J.R. Stauffer Jr. (eds.), Distribution, Biology and Management of Exotic Fishes. The John Hopkins University press, Baltimore, Maryland.
- Varela-Romero, A. 1995. Perspectivas de recuperación y cultivo de peces nativos en el Noroeste de México. Publicaciones Académicas CICTUS, Serie CM, 3: 1-6.
- Varela-Romero, A. 2007. Variación genética mitocondrial en bagres del género *Ictalurus* (Pisces: Ictaluridae) en el Noroeste de México. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. 194 p.
- Varela-Romero, A. y D.A. Hendrickson. 2009. Peces dulceacuícolas. p 339-356 En: F.E. Molina-Fraener y T.R. Van Devender (eds.), Diversidad biológica de Sonora. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México.
- Varela-Romero, A., G. Yepiz-Plascencia, D.A. Hendrickson, J.E. Brooks y D.A. Nelly. 2011. Status of the Yaqui catfish (*Ictalurus pricei*) in the United States and northwest Mexico. Southwestern Naturalists, 56(2): 278-286.
- Vega-Heredia, S. 2007. Caracterización y filogenia de la región control del genoma mitocondrial de especies del género *Ictalurus* (Pisces: Ictaluridae) en el Noroeste de México. Tesis de Maestría. CIIDIR Instituto Politécnico Nacional. 57 p.
- Walberg, M.W. y D.A. Clayton. 1981. Sequence and properties of the human Kb cell and mouse L cell D-loop regions of mitochondrial DNA. Nucleic Acids Research, 9: 5411-5421.
- Waldbieser, G.C., A.L. Bilodeau y D.J. Nonneman. 2003. Complete sequence and characterization of the channel catfish mitochondrial genome. DNA Sequences, 14: 265-277.
- Wang, X., J. Wang, S. He y R.L. Mayden. 2007. The complete mitochondrial genome of the chinese hook snout carp *Opsariichthys bidens* (Actinopterygii: Cypriniformes) and an alternative pattern of mitogenomic evolution in vertebrate. Gene, 399: 11-19.
- Wilcox, T.P, F.J, García de León, D.A. Hendrickson y D.M. Hillis. 2004. Convergence among cave catfishes: long-branch attraction and a Bayesian relative rates test. Molecular Phylogenetics and Evolution, 32: 1101-1113.
- Yun, Y.E., J.N. Yu, S. Kim y M. Kwak. 2012. The complete mitochondrial genome of Kumgang fat minnow *Rhynchocypris kumgangensis* (Cypriniformes, Leuciscinae) in Korea. Mitochondrial DNA, 23: 347-349.
- Zhanjiang, L. 2003. A review of catfish genomics: progress and perspectives. Comparative and Functional Genomics, 4: 259-265.

Zwickl, D.J. y D.M. Hillis. 2002. Increased taxon sampling greatly reduces phylogenetic error. *Systematic Biology*, 51: 588-98.